



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

“Determinación de la dosis analgésica y las constantes farmacocinéticas del fentanilo en alpacas”

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con
mención en Farmacología Experimental

AUTOR

Ysaac Ruben CHIPAYO GONZALES

ASESOR

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Chipayo Y. Determinación de la dosis analgésica y las constantes farmacocinéticas del fentanilo en alpacas [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2021.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Ysaac Ruben Chipayo Gonzales
DNI	10689451
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7652-532X
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Arroyo Acevedo
DNI	06785241
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7695-1908
Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica
Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	<p>Edificio: CI – IVITA Marangani País: Perú Departamento: Cusco Provincia: Canchis Distrito: Marangani Latitud: -14.35636 Longitud: -71.16682</p> <p>Edificio: Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Calle: Av. Circunvalación 2800 Latitud: -12.08149 Longitud: -76.98763</p> <p>Edificio: Facultad de Medicina San Fernando, UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de</p>

	Lima Calle: Av. Miguel Grau 755 Latitud: -12.05768 Longitud: -77.02292
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Marzo 2007 – Diciembre 2021
URL de disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado



ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA
EXPERIMENTAL

Siendo las **12:00 hrs. del 13 de mayo de 2021** se reunieron mediante la plataforma de Google meet de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de Tesis, presidido por el Dr. César Máximo Fuertes Ruiton e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (asesor), Dr. Víctor Manuel Chumpitaz Cerrate y Dr. César Aquiles Lázaro De La Torre; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"DETERMINACION DE LA DOSIS ANALGESICA Y LAS CONSTANTES FARMACOCINETICAS DEL FENTANILO EN ALPACAS"**, presentado por el Bachiller en Medicina Veterinaria **YSAAC RUBEN CHIPAYO GONZALES**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la Tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación, el Jurado Evaluador de Tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Dieciocho (18) Muy Bueno

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Medicina Veterinaria **YSAAC RUBEN CHIPAYO GONZALES**, el Grado Académico de Magíster en **Farmacología con mención en Farmacología Experimental**.

Siendo las **13:45** hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las **13:45** hrs. del 13 de mayo de 2021.

Dr. César Máximo Fuertes Ruiton (P.P., D.E.)
Presidente

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P. P., T.C.)
Miembro - Asesor

Dr. Víctor Manuel Chumpitaz Cerrate (P. Asoc, T.C.)
Miembro

Dr. César Aquiles Lázaro De La Torre (P. Asoc. D.E.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIA

Al ser que más quise y admire en toda mi vida y que ya no se encuentra conmigo... En gratitud a todo su amor, su valentía y esfuerzo. Por hacer de mis hermanos y de mí verdaderos seres humanos. Por su constante ejemplo de comportamiento hasta en los actos más simples del día a día. Por ser el super héroe de carne y hueso que nos protegió de todos los peligros. A mi madre la Doctora Gloria Miranda Gonzales Cohen, que Dios la tenga en su gloria.

A mi esposa Marita y a mi hijo Diego, en agradecimiento a todo su amor y paciencia. Por estar conmigo siempre y enseñarme con sus actos a ser mejor cada día. Son lo más importante para mí.

Al Doctor Jorge Arroyo por toda su enseñanza en las aulas y en sus actos, y por su ayuda en la realización de este trabajo.

A todas las personas que de una u otra forma colaboraron conmigo en la realización de este trabajo. A los colegas y amigos que me acompañaron en esta aventura.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Universidad Viva que se apodero de mí y me hizo parte de ella. A donde valla la llevare siempre conmigo.

INDICE

i. Dedicatoria.....	2
ii. Índice.....	3
iii. Resumen.....	6
iv. Abstract.....	7
v. Índice de Tablas.....	8
vi. Índice de Figuras.....	9
 CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	 11
CAPITULO II MARCO TEÓRICO.....	13
2.1. Antecedentes de investigación.....	13
2.2. Aspectos teóricos.....	15
2.2.1 Dolor.....	15
2.2.2 Bases anatómicas del dolor.....	17
2.2.2.1 Receptores.....	17
2.2.2.2 Neuronas de 1er Orden.....	18
2.2.2.3 Neuronas de 2do Orden.....	18
2.2.2.4 Vías Ascendentes.....	19
2.2.2.5 Corteza Cerebral.....	20
2.2.3 Manejo del Dolor.....	21
2.2.4 Analgesia.....	22
2.2.5 Analgésicos Opioides.....	22
2.2.5.1 Generalidades.....	22
2.2.5.2 Receptores Opioides.....	22
2.2.5.3 Clasificación de los Opioides.....	23
2.2.5.4 Fentanilo.....	26
2.2.5.5 Farmacocinética del Fentanilo.....	26
2.2.5.6 Mecanismo de Acción.....	28

2.2.5.7 Efectos Farmacológicos del Fentanilo.....	29
2.2.5.8 Uso del Fentanilo.....	31
2.2.5.9 Uso del Fentanilo en anestesia de alpacas.....	32
2.2.5.10 Evaluación de la analgesia.....	33
2.3. Términos de referencia (glosario de términos)	35
 CAPITULO III METODOLOGÍA.....	 36
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	36
3.2. Unidad de análisis.....	36
3.3. Población de estudio.....	37
3.4. Tamaño de muestra.....	37
3.5. Selección de muestra.....	37
3.6. Métodos y procedimientos.....	38
3.6.1 Experimento 1: Evaluación de la Respuesta Fisiológica a estímulos dolorosos.....	38
3.6.2 Experimento 2: Evaluación de la inyección endovenosa de tres diferentes dosis de fentanilo en bolo.....	38
3.6.2.1 Toma de Datos.....	39
3.6.2.2 Evaluación de la sedación.....	39
3.6.2.3 Evaluación de la Respuesta al Dolor.....	40
3.6.2.4 Evaluación de la Concentración Plasmática de Fentanilo.....	40
3.6.3 Experimento 3: Evaluación de los Efectos de la inyección endovenosa de Fentanilo en tres dosis de infusión a ritmo constante (IRCO).....	41
3.6.3.1 Toma de Datos.....	42
3.6.3.2 Evaluación de la sedación.....	42
3.6.3.3 Evaluación de la Respuesta al Dolor.....	42
3.6.3.4 Evaluación de la Concentración Plasmática de Fentanilo.....	42
3.7. Análisis e interpretación de la información.....	43
3.8. Consideraciones éticas.....	43
 CAPITULO IV: RESULTADOS.....	 44

4.1 Experimento 1: Evaluación de la Respuesta Fisiológica a estímulos dolorosos.....	44
4.2 Experimento 2: Evaluación de la inyección endovenosa de tres diferentes dosis de fentanilo en bolo.....	46
4.2.1 Evaluación de la sedación.....	46
4.2.2 Evaluación de la Frecuencia cardiaca	47
4.2.3 Evaluación de la Respuesta al Dolor	49
4.2.4 Evaluación de la Concentración Plasmática de Fentanilo.....	52
4.3 Experimento 3: Evaluación de los Efectos de la inyección endovenosa de Fentanilo en tres dosis de infusión a ritmo constante (IRCO).....	54
4.3.1 Evaluación de la sedación.....	54
4.3.2 Evaluación de la Frecuencia Cardiaca.....	55
4.3.3 Evaluación de la Respuesta al Dolor.....	56
4.3.4 Evaluación de la Concentración Plasmática de Fentanilo.....	60
 CAPITULO V DISCUSION.....	 62
CAPITULO VI CONCLUSIONES.....	70
CAPITULO VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

RESUMEN

Introducción: El fentanilo es un fármaco analgésico opioide seguro y muy usado en diferentes especies de animales domésticos. En alpacas existe poco conocimiento y controversia sobre los efectos analgésicos del fentanilo. **Objetivo:** Determinar el efecto analgésico del fentanilo en tres dosis diferentes y evaluar sus constantes farmacocinéticas en alpacas. **Diseño:** Experimental, en el CI-IVITA Marangani, Cuzco-Perú. **Intervenciones:** Se desarrollaron tres fases experimentales. La primera fase evaluó la elevación de la frecuencia cardíaca en respuesta a diferentes estímulos dolorosos. En la segunda se evaluó los efectos de la utilización de tres dosis diferentes endovenosas de fentanilo 0.0025, 0.005 y 0.0075 ug/kg. En la tercera se evaluó el uso de tres dosis de infusión a ritmo constante de fentanilo por 30 minutos, 0.003, 0.006 y 0.009 ug/kg/hr. **Principales medidas de resultados:** Se evaluó la frecuencia cardíaca, respiratoria, pulso, grado de depresión, elevación de la frecuencia cardíaca durante el estímulo doloroso y se tomaron muestras sanguíneas para evaluar el comportamiento farmacocinético del fentanilo en alpacas por análisis de cromatografía líquida de alta performance. **Resultados:** El fentanilo posee efectos analgésicos en las alpacas a dosis de 0.0075mg/kg ($p > 0.05$), estos efectos se pueden prolongar por 30 minutos con una infusión a ritmo constante de 0.009mg/kg/hr. El fentanilo muestra un comportamiento bicompartimental en alpacas con $t_{1/2\alpha}$: 4.71min, $t_{1/2\beta}$: 266.27min. **Conclusiones:** El estudio ha permitido establecer el efecto analgésico del fentanilo en alpacas adultas machos y aclarar sus constantes farmacocinéticas al usarlo por IV.

ABSTRACT

Fentanyl is a safe opioid analgesic drug, widely used in different species of domestic animals. In alpacas, there is little knowledge and controversy about the analgesic effects of fentanyl. **Objective:** to determine the analgesic dose of fentanyl and to evaluate its pharmacokinetic constants in alpacas. **Design:** experimental, at CI-IVITA Marangani, Cuzco-Peru. **Intervention:** three experimental phases were designed. The first phase evaluated heart rate elevation in response to different painful stimuli. In the second, the effects of the use of three different intravenous doses of fentanyl 0.0025, 0.005 and 0.0075 ug / kg were evaluated. In the third, the use of three infusion doses of fentanyl at a constant rate for 30 minutes, 0.003, 0.006 and 0.009 ug / kg / hr, was evaluated. **Main outcome measures:** The heart rate, respiratory rate, pulse, degree of depression, increased heart rate during the painful stimulus were evaluated and blood samples were taken to evaluate the pharmacokinetic of fentanyl in alpacas by high performance liquid chromatography. **Results and conclusions:** Fentanyl has analgesic effects in alpacas at a dose of 0.0075mg / kg, these effects can be prolonged for 30 minutes with an infusion at a constant rate of 0.009mg / kg / hr ($p > 0.05$). Fentanyl shows a bicompartamental behavior in alpacas with $t_{1/2\alpha}$: 4.71min, $t_{1/2\beta}$: 266.27min.

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación química de los opioides.....	33
Tabla 2. Clasificación de los opioides por su afinidad por el receptor.....	34
Tabla 3. Frecuencia cardiaca promedio basal y en respuesta a 3 estímulos dolorosos en alpacas.....	59
Tabla 4. Variación de la Frecuencia cardiaca (V.F.C.) en los animales en respuesta a un estímulo doloroso.....	60
Tabla 5. Tabla de contingencia de los tres grupos de tratamiento y el número de alpacas que mostro sedación en cada grupo	61
Tabla 6. Promedio de la frecuencia cardiaca en alpacas tratadas con 0.0025 (Grupo 1), 0.005 (Grupo 2) y 0.0075 (Grupo 3) mg/kgPV de fentanilo por vía endovenosa en dosis única.	62
Tabla 7. Promedio de la elevación de la frecuencia cardiaca en alpacas tratadas con 0.0025 (Grupo 1), 0.005 (Grupo 2) y 0.0075 (Grupo 3) mg/kg de Fentanilo por vía endovenosa en dosis única a través del tiempo.	63
Tabla 8. Valores de la concentración plasmática de Fentanilo en ng/ml y el SE en alpacas después de la inyección de 0.0075mg en bolo por vía endovenosa (Bolo).....	66
Tabla 9. Constantes farmacocinéticas del fentanilo en alpacas machos después de una inyección en bolo de 0.075 mg/kg	68

Tabla 10. Promedio de la frecuencia cardiaca en alpacas tratadas con una inyección inicial de 0.0075 mg/KgPV de fentanilo por vía endovenosa en dosis única y luego una infusión continua de 0.003 mg/KgPV/ hora (Grupo 1), 0.006 mg/kgPV/hora (Grupo 2) y 0.009 mg/kgPV/hora (Grupo 3).70

Tabla 11. Promedio de la variación de la Frecuencia cardiaca (V.F.C.) en los animales en respuesta a un estímulo doloroso.72

Tabla 12: valores de la concentración plasmática de fentanilo en alpacas después de la inyección de un bolo de 0.0075mg/kg y la inmediata infusión a ritmo constante de fentanilo a dosis de 0.009mg/kg/hora.....77

Índice de Figuras

Figura 1. Transmisión de las señales de dolor hacia la medula y tallo cerebral.....	17
Figura 2. Divisiones anterior y lateral de la medula espinal.....	19
Figura 3. Estructura del Citrato de Fentanilo.....	38
Figura 1. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0025 mg/KPV de fentanilo.....	64
Figura 2. Promedio de la frecuencia cardiaca en reposo y en respuesta al estímulo doloroso en animales tratados con 0.005 mg/KPV de fentanilo.	65
Figura 3. Promedio de la frecuencia cardiaca en reposo y en respuesta al estímulo doloroso en animales tratados con 0.0075 mg/KPV de fentanilo.	66
Figura 7. Gráfica del promedio+ SD del logaritmo de las concentraciones plasmáticas de fentanilo después de la administración EV de 0.0075 mg/kg de peso vivo en 10 alpacas.....	67
Figura 8. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0075 mg/KgPV de fentanilo en bolo y con una IRCO de 0.003 mg/KgPV/hora (Grupo 1).....	74
Figura 9. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0075 mg/KgPV de fentanilo en bolo y con una IRCO de 0.006 mg/KgPV/hora (Grupo 2).	75
Figura 10. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0075 mg/KgPV de fentanilo en bolo y con una IRCO de 0.009 mg/KgPV/hora (Grupo 3).....	75
Figura 11. Gráfica logarítmica de los promedios (+/- SD) de las concentraciones plasmáticas de fentanilo después de la administración a ritmo constante (0.009 mg/kg de peso vivo/hora) en 10 alpacas.	78

CAPITULO I: INTRODUCCION

En el campo de la medicina veterinaria es importante el disponer de protocolos anestésicos equilibrados que permitan el desarrollo de técnicas quirúrgicas seguras para los animales tratados. En este sentido el aporte analgésico es de especial relevancia dado que un paciente anestesiado puede sufrir alteraciones fisiopatológicas producto de una respuesta vegetativa Simpática incrementada cuando se dan eventos dolorosos no controlados que a su vez generan alteraciones sistémicas potencialmente peligrosos para el paciente (1). Además, cuando se trabaja con especies de vida libre o poco habituadas al manejo directo como los camélidos sudamericanos, el uso único de protocolos anestésicos para mantener al paciente en un estado poco profundo en donde se favorece solo la restricción física durante la realización de los procedimientos dolorosos, puede suponer un riesgo importante para los operarios durante la realización de las maniobras y para el bienestar del animal dado que el estrés de la captura y sujeción incrementan los efectos fisiopatológicos de la respuesta a los estímulos dolorosos (1, 2). Por esto en situaciones especiales en las que la sujeción física así como el uso de fármacos anestésicos pueden conllevar a efectos de morbilidad y mortalidad que produzcan pérdidas importantes en el potencial productivo del animal intervenido, el uso de agentes analgésicos que reduzcan el estrés, que ayuden a controlar los cambios fisiopatológicos asociados a un estado doloroso y en consecuencia minimicen los efectos en la producción resultan de mucha ayuda para el regreso rápido del animal a su actividad productiva (1).

En el caso de las alpacas se dispone de muy poca información que permita el planteamiento de un protocolo equilibrado de anestesia para el abordaje quirúrgico de los pacientes (2, 3). La escasa literatura publicada menciona la extrapolación de experiencias y conocimientos obtenidos de otras especies animales con resultados variables y difícilmente replicables en las condiciones habituales de su crianza en nuestro país. (3-6)

El fentanilo es una droga opioide que se usa comúnmente en cirugía en diferentes especies animales, por su deseable efecto analgésico, su corta duración y comparativamente con otras drogas permite un fácil manejo en protocolos de dosificación continua por tiempos prolongados y su baja presentación de efectos adversos. Estas características observadas en otras especies plantean la posibilidad del uso adecuado del fentanilo en protocolos analgésicos en alpacas.

El objetivo del presente trabajo es el de Determinar la dosis analgésica del fentanilo y sus parámetros farmacocinéticos en alpacas.

CAPITULO II: Marco Teórico

2.1 Antecedentes de Investigación

Joachim Arndt, Marianne Mikat y Chandra Parasher, en 1984, en su investigación “Fentanyl’s Analgesic, Respiratory, and Cardiovascular Actions in Relation to Dose and Plasma Concentration in Unanesthetized Dogs” con el objetivo de evaluar la relación entre la concentración plasmática de Fentanilo y su efecto sobre el estado analgésico, frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca y presión arterial, evitando el efecto de interacción de otras drogas anestésicas en perros, utilizó pacientes caninos entrenados, no anestesiados que se mantuvieron respirando espontáneamente. Después de una evaluación inicial el fentanilo se inyectó en dosis acumulativas a intervalos de 5 minutos hasta los 20 minutos alcanzando una dosis total de 167.5 ug/kg. Se evaluó la respuesta al estímulo doloroso midiendo la variación de la frecuencia cardíaca y presión arterial como respuesta a la compresión de la cola. Se evaluó también la frecuencia respiratoria, el consumo de oxígeno y la tensión arterial de oxígeno, frecuencia cardíaca, presión arterial y concentración plasmática de fentanilo. El estudio concluye que los efectos máximos del fentanilo se dieron alrededor de los 30ng/ml de concentración plasmática. El consumo de Oxígeno mostro una disminución muy superficial durante las evaluaciones. El fentanilo suprimió las respuestas a la estimulación dolorosa producida por la compresión de la cola. El efecto de los animales fue de ligera sedación al inicio y luego la sedación fue aumentando hasta estar en un estado similar al sueño fisiológico (7).

Peter Pascoe, en el 2000, en su artículo “Opioid Analgesics”, con el objetivo de estandarizar el uso de los opioides en caninos y felinos ante diferentes situaciones potencialmente dolorosas realizó una compilación de información disponible hasta ese momento en la literatura.

Concluyendo que en perros y gatos los opioides, en especial el fentanilo son drogas que se comportan de manera similar a lo reportado en Medicina humana logrando el aporte analgésico adecuado en estas especies (8).

Tadashi Sano, Ryohei Nishimura, Hideko Kanazawa, Eri. Igarashi, Yshiko Nagata, Manabu Mochizuki, Nobuo Sasaki, en 2006, en su investigación “Pharmacokinetics of fentanyl after single intravenous injection and constant rate infusion in dogs”, con el objetivo de evaluar la concentración plasmática después de la inyección de 10ug/kg y las constantes farmacocinéticas en perros. Utilizó 14 perros, 7 machos y 7 hembras de 1 a 2 años. Los perros recibieron 10ug/kg de fentanilo en bolo y luego de 14 días se les inyectó nuevamente la misma dosis seguida de un protocolo de goteo continuo de 10ug/kg/hora. Se obtuvieron muestras de sangre (2.5 ml) antes de la inyección del bolo y después de 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después. En la segunda evaluación se tomaron las muestras 1, 5, 10, 20, 40 y 60 minutos después del inicio de la infusión continua y 2, 5, 10, 30, 45, 60, 120, 240, 360 y 480 minutos después de terminarla. Se concluyó que los valores de concentración plasmática de fentanilo disminuyen rápidamente después de la inyección inicial y la curva de concentración plasmática con relación al tiempo demostró un comportamiento bicompartimental. Las variables farmacocinéticas después de la inyección endovenosa se caracterizaron por una corta vida media de distribución ($t_{1/2a}$ de 4.5 minutos), una vida media de eliminación relativamente larga ($t_{1/2b}$ de 45.7 minutos), un volumen de distribución grande (aproximadamente 5 L /kg) y un alto clearance total (77.9 mL/minuto/kg). Además, se logró la estabilización de los niveles plasmáticos con la infusión a tiempo constante por goteo continuo (9).

Oscar Espezua, Ysaac Chipayo, Juan Olazabal, en 2015, en su publicación “Anestesia Total Intravenosa de la combinación Xilacina, Ketamina y Fentanilo para la Canulación del primer compartimiento en Alpacas” reportan haber utilizado cinco alpacas, en buen estado de salud a las que se administró para la anestesia una asociación de xilacina y ketamina en bolos repetidos y además como analgésico utilizaron fentanilo en inyección endovenosa de 5ug/kg seguido por un goteo continuo de 5ug/kg/hr para la realización de cirugías abdominales de colocación de fistulas en el primer compartimiento gástrico, para realización de estudios de nutrición y alimentación animal. Su evaluación luego de la administración del fentanilo concluye que el fentanilo presenta un efecto sedante y analgésico en alpacas a dosis de 5ug/kg y en asociación a ketamina y xilacina (10).

Michael Lovasz, en 2016, en su investigación “Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Fentanyl in Alpacas after Intravenous and Transdermal Administration”. Con el objetivo de determinar la farmacocinética y farmacodinamia del fentanilo después de la inyección endovenosa y de la administración transdérmica, utilizo 6 alpacas adultas a las que se le administro 2ug/kg de fentanilo endovenoso y luego 2ug/kg/hr de fentanilo vía transdérmica. Se tomaron muestras de sangre para determinar la concentración plasmática luego de la administración de los dos protocolos. Sus resultados muestran un tiempo de vida media de 3.1 horas, clearance de 921 ± 189 mL/Kg/hr y un volumen de distribución de 4.3 ± 1.8 L/kg, observando escasa sedación en los animales y ningún efecto analgésico por lo que se cuestiona su uso en protocolos anestésicos en esta especie (11).

2.2 Aspectos Teóricos

2.2.1 Dolor

La asociación internacional para el estudio del dolor lo define como “una experiencia sensorial y/o emocional desagradable que puede estar asociada o no a un daño de los tejidos”. Esta definición es adecuada para los pacientes humanos que pueden expresar sus emociones claramente, sin embargo, resulta muy difícil definir la experiencia dolorosa en animales y mucho más en animales como los camélidos sudamericanos en su hábitat altoandino de crianza ancestral. Por ello, el concepto práctico utilizado por los Médicos Veterinarios que trabajan con especies como esta es el de Nocicepción, que se refiere al proceso fisiológico por el cual los estímulos externos generados por un daño actual o potencial en los tejidos pueden ser percibidos por el cuerpo, traducidos en un potencial de acción y transmitidos por las estructuras nerviosas hacia los centros altos de control del sistema nervioso. El conocimiento del proceso nociceptivo permite entender como los estímulos nocivos pueden gestionar respuestas corporales complejas, al inicio de una manera vegetativa no consciente, alterando las constantes fisiológicas del paciente, hecho que puede ser medido de manera clara, y luego generando la percepción consciente del evento doloroso (12-14).

Entonces, aunque en los animales de producción resulta difícil la evaluación de su experiencia sensorial y emocional dolorosa, en ellos se pueden evaluar los cambios fisiopatológicos producto de la experiencia dolorosa en base a la respuesta corporal al estrés nociceptivo(15). La capacidad de detectar estas respuestas al evento nociceptivo y bloquear esta respuesta corporal anómala es el objetivo del tratamiento analgésico y permite evitar el estado de sufrimiento innecesario de los mismos al ser sometidos a un evento nosológico como puede ser una intervención quirúrgica, acelerar el reingreso del paciente a la cadena productiva objeto de su crianza y evitar la aparición de accidentes intra quirúrgicos que pueden producir morbilidad o mortalidad en los animales (16).

2.2.2 Bases anatómicas del dolor

2.2.2.1 Receptores. Los receptores encargados de la percepción de estímulos potencialmente dolorosos se conocen con el nombre de nociceptores y son las terminaciones periféricas de las fibras nerviosas aferentes sensoriales primarias, también llamadas neuronas de primer orden (12). Estos receptores se encuentran distribuidos en los diferentes tejidos sean estos somáticos o viscerales (17).

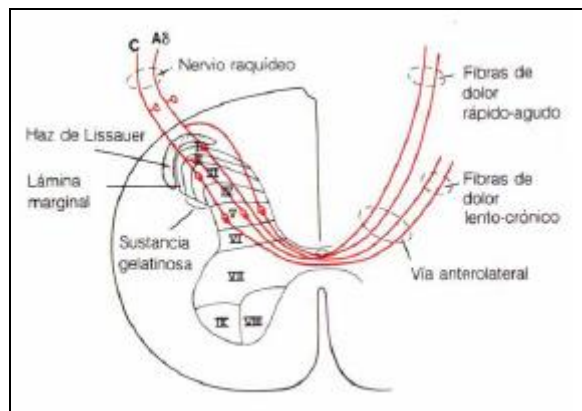
Los nociceptores poseen la capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y nocivos de acuerdo con la intensidad de los mismos; es así que estos receptores solo se activan ante estímulos que alcanzan una intensidad determinada (18, 19). En función de su localización y de sus características los nociceptores se pueden clasificar en tres grupos: cutáneos, musculares-articulares y viscerales.

Los nociceptores cutáneos se caracterizan por poseer un alto umbral de estimulación activándose solamente frente a estímulos muy intensos y tienen la capacidad de codificar de forma muy precisa la intensidad del estímulo nocivo. Los nociceptores cutáneos se subdividen a su vez en función a las vías que utilizan para transmitir las señales en terminaciones nerviosas de fibras mielínicas o terminaciones nerviosas de fibras amielínicas. Los nociceptores cutáneos A- δ son las terminaciones nerviosas de fibras mielínicas y transmiten señales de dolor agudo, de manera rápida y responden principalmente a estímulos nocivos de tipo mecánico. Los nociceptores cutáneos de tipo C son las terminaciones de fibras amielínicas que transmiten señales de dolor crónico, están localizados en la dermis y responden a estímulos mecánicos, térmicos o químicos (20).

Los nociceptores viscerales suelen ser terminaciones libres de fibras amielínicas aferentes del sistema nervioso simpático. Esta inervación sensitiva visceral vegetativa parece ser una de las causas de la sensación difusa e inespecífica reportada por el dolor visceral (18, 19, 21).

Luego de la percepción periférica realizada por los nociceptores se inicia el proceso de transmisión del impulso nociceptivo, en este proceso participan las siguientes neuronas:

2.2.2.2 Neuronas de primer orden. También llamada primera neurona sensitiva, son las fibras nerviosas asociadas a los nociceptores, estas neuronas después de recibir el estímulo, lo traducen en un potencial de acción y lo vehiculizan hasta la sustancia gris del asta dorsal de la medula. La llegada del axon que vehiculiza este tipo de aferencia ingresa a la medula principalmente por la raíz dorsal, aunque también se ha encontrado la presencia de axones aferentes en la raíz ventral (1). Una vez que los estímulos llegan a este nivel, estos alcanzan sinapsis neuronales que permiten el avance del estímulo a los centros superiores (Fig 1).



**Figura 4. Transmisión de las señales de dolor hacia la medula y tallo cerebral
(Guyton 1989)(12)**

2.2.2.3 Neuronas de segundo orden. Son neuronas que reciben el estímulo nervioso en la región dorsal de la medula y discurren a través de la medula hasta las vías de conducción central ascendentes. Los patrones anatómicos donde terminan particularmente las neuronas aferentes dependen de las propiedades funcionales de los receptores, es decir del tipo de receptor que inicio la transmisión neuronal. El esquema laminar de Rexed explica la división de la sustancia gris de la medula en diez láminas, de estas las seis primeras (I-VI) y la décima (X) corresponden al asta dorsal de la medula.

Las neuronas mielínicas de gran calibre ($A\beta$) conectadas con mecanorreceptores cutáneos de bajo umbral, terminan en las láminas III, IV y V y en la porción dorsal de la lámina VI. Las neuronas aferentes de calibre pequeño ($A\delta$), conectadas con los mecanorreceptores de los folículos pilosos terminan en la lámina III y penetran en la zona ventral de la lámina II. Las neuronas nociceptivas son aquellas que se relacionan directamente con la transmisión de estímulos dolorosos. Las neuronas nociceptivas cutáneas del tipo A- δ terminan en la lámina I y presentan ramas que alcanzan la lámina V. Los receptores nociceptivos cutáneos tipo C terminan principalmente en la lámina II aunque también llegan a la lámina I y a la región dorsal de la lámina III. Las fibras procedentes de los nociceptores musculares y articulares, sinapsan en las láminas I, V y VI; mientras que los nociceptores viscerales lo hacen en las láminas I, V y X (22).

2.2.2.4 Las vías ascendentes. La mayor parte de las vías espinales ascendentes contienen axones de neuronas nociceptivas. Una gran porción de las neuronas nociceptivas medulares envía sus axones a los centros supra espinales, bulbares y talámicos. El tracto nociceptivo ascendente mejor caracterizado es el espinotalámico, cuyas neuronas se originan de las láminas I, IV y VI de la asta dorsal de la medula. El tracto espinotalámico también muestra particularidades topográficas de acuerdo con el tipo de información que transmite. Está formado por el fascículo espinotalámico lateral, que transmite información realizada con la sensibilidad térmica y dolorosa y el fascículo espinotalámico anterior que vehiculiza la sensibilidad táctil.

Las neuronas del tracto espinotalámico atraviesan la medula y cruzan al lado contrario para situarse en la región anterolateral de la sustancia blanca para ascender. En su trayecto ascendente los fascículos del tracto espinotalámico se separan en el bulbo, donde el fascículo anterior se confunde con las fibras que conducen la sensibilidad táctil. El fascículo lateral por su parte atraviesa sin interrupción alguna el bulbo, la protuberancia y el pedúnculo cerebral a cuyo nivel se une nuevamente al fascículo espinotalámico anterior (Figura 2).

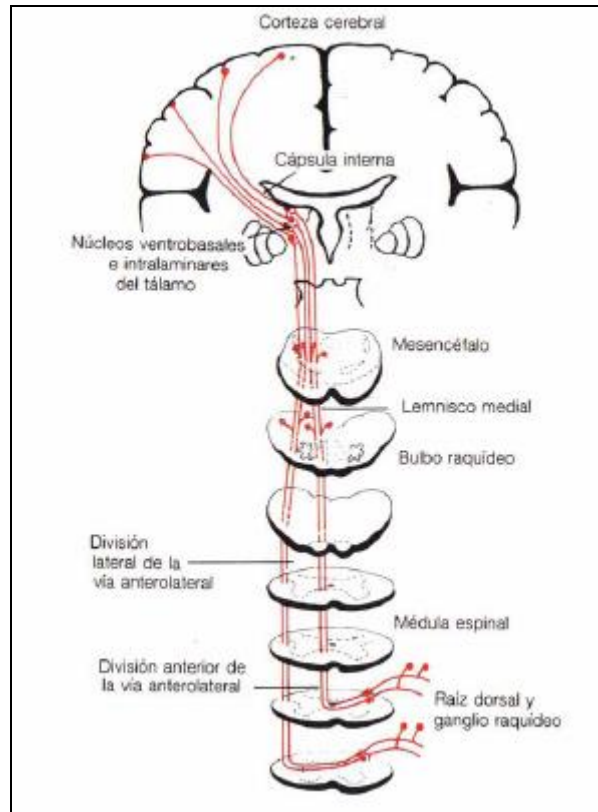


Figura 5. Divisiones anterior y lateral de la medula espinal (tomada de Guyton, A. 1989) (12)

2.2.2.5 Corteza cerebral. Constituido por todas las áreas cerebrales que integran la sensación nociceptiva y la traducen a dolor. Tradicionalmente, el dolor se había considerado como una sensación afectiva, que carece de representación cortical, pero experimentos han demostrado que la estimulación eléctrica de la corteza cerebral en pacientes produce la sensación dolorosa (23). En animales de experimentación se ha reportado también la presencia de neuronas corticales con aferencias nociceptivas tanto en el tálamo como en la corteza cerebral. Lo que permite concluir que los centros corticales y no solo los talámicos permiten la integración final de las sensaciones dolorosas (24).

2.2.3 Manejo del dolor

La importancia del manejo del dolor en anestesiología veterinaria radica en la capacidad de disminuir no solo el sufrimiento innecesario de los pacientes anestesiados sino en controlar la respuesta corporal a estos eventos dolorosos que generan la probabilidad de alteraciones fisiológicas generadoras de morbilidad o mortalidad además de producir sufrimiento innecesario e incomodidad en los pacientes. Al lograr la elaboración de un protocolo anestésico equilibrado en el que la analgesia actúa de manera sinérgica con los fármacos utilizados para la anestesia general se logra también disminuir las dosis de las otras drogas utilizadas disminuyendo así el riesgo quirúrgico ante la exposición a depresores centrales (25). Estudios realizados en anestesiología veterinaria durante los últimos años muestran que el manejo del dolor debe ser incluido en los protocolos anestésicos porque la mayoría de los agentes anestésicos poseen poco o ningún efecto analgésico.

2.2.4 Analgesia

El alivio del dolor como medida médica ha estado presente desde la prehistoria. Este tipo de alivio se limitaba al empleo de terapias físicas tales como masajes, compresiones y la aplicación de calor o frío. En los pueblos de la antigüedad como Mesopotamia y Babilonia (3000-2500 A.C.) existían sacerdotes médicos que empleaban semillas de beleño con fines analgésicos. En los pueblos del Asia menor, también se utilizaban técnicas como las mencionadas en el papiro de Ebers que incluía diversas formas de aplicar el opio con fines analgésicos (26). El concepto de analgesia ha variado mucho según se ha ido entendiendo la fisiopatología del proceso nociceptivo. Al inicio se definía analgesia como la ausencia de respuestas externas asociadas a un evento nocivo, sin embargo al observar que el proceso nociceptivo requiere como mínimo de tres neuronas en la transmisión de la información desde el receptor hasta la corteza cerebral y dado que en esa secuencia de transmisión la respuesta vegetativa principalmente simpática se da de manera independiente a la percepción consciente, esto quiere decir que cuando la información llega al tálamo, la respuesta vegetativa se dará aunque la información no alcance a la corteza cerebral. Por eso en la actualidad Analgesia se define como la falta o disminución de las

sensaciones dolorosas, que no afecta a los demás sentidos con ausencia de respuesta vegetativa asociada al estímulo doloroso.

2.2.5 Analgésicos opioides

2.2.5.1 Generalidades

El termino opioide se usa generalmente para designar todos los compuestos exógenos y sintéticos, derivadas o no del opio que se unen a subpoblaciones específicas de receptores opioides; mientras que el termino opiáceo hace referencia a los derivados del opio que presenten efectos parecidos a morfina o no. Estas sustancias, poseen actividad analgésica y son muy usados en protocolos de analgesia. Los opioides poseen 3 lugares principales de acción; la inhibición de la transmisión nociceptiva a nivel medular, la inhibición de las vías aferentes somato-sensitivas supra-espinales y la activación de las vías inhibitorias descendentes; produciendo así su efecto analgésico (27).

2.2.5.2 Receptores opioides

Los receptores opioides se encuentran distribuidos a lo largo del sistema nervioso central (SNC) así como también se les puede encontrar en los tejidos periféricos. Los receptores opioides son estructuras complejas que atraviesan la membrana celular y se clasifican como metabotrópicos, estos receptores son estimulados por péptidos endógenos como por ejemplo endorfinas o encefalinas producidas como respuesta a un estímulo doloroso. Los receptores opioides más importantes son 3 y han sido nombrados con las letras griegas Mu (μ), Delta (δ) y Kappa (κ).

Los receptores Mu (μ) se encuentran principalmente en el tálamo medio y en la base cerebral. Estos receptores son responsables de la analgesia supra-espinal, depresión respiratoria, sedación, euforia, dependencia y disminución de los movimientos gastrointestinales. Los tipos de receptores μ incluyen receptores Mu1 y Mu2. Los receptores Mu tipo 1 se encuentran relacionados a analgesia y euforia; mientras que los de tipo 2 son responsables de la depresión respiratoria, prurito, liberación de prolactina, anorexia, dependencia y sedación. Los receptores Mu son también conocidos como OP3 o MOR (receptor opioide de morfina).

Los receptores Delta (δ) se localizan en su mayoría en el cerebro y sus efectos no están aún bien determinados. Algunos estudios sugieren que estos receptores podrían ser los responsables de los efectos disfóricos. A estos receptores también se les conoce como receptores OP1.

El tercer grupo de receptores opioides se conoce con el nombre de receptores Kappa (κ). Los receptores κ se localizan en las zonas diencefálicas y en la medula espinal. Estos receptores son los responsables de la analgesia espinal, sedación, disnea, dependencia, disforia y depresión respiratoria. A los receptores Kappa también se les conoce como receptores OP2.

Estructuralmente se encuentran conformados por curvaturas intracelulares y extracelulares, además de 7 regiones de transmembrana. La región amino terminal (N-terminal) de estos receptores se localiza en el extracelular mientras que la región carboxi terminal (C-terminal) se encuentra al interior de la célula. Los receptores opioides luego de ser activados liberan una porción de la proteína G la cual se difunde hasta encontrar su objetivo, alterando la fosforilación proteica vía inhibición del AMP cíclico (cAMP) el cual actúa como mensajero secundario en la célula activando así kinasas y la transcripción de genes.

2.2.5.3 Clasificación de los opioides

Existen varias formas de clasificar a los opioides, sin embargo las más utilizadas son aquellas que se basan en la estructura química (tabla 2) y en la afinidad por los receptores (tabla 3).

Tabla 1. Clasificación química de los opioides (28).

Clase	Agonista	Antagonista
Opio	Morfina, codeína	Nalorifina
Oripavina	Etorfina	Buprenorfina
Morfina	Hidromorfona, oximorfona	Naloxona, naltrexona, nalbufina
Morfinano	Levorfanol	Levalorfan, butorfanol
Benzomorfanio	Fenazocina	Pentazocina
Difenilmetano	Metadona, propoxifeno	
Fenilpiperidina	Meperidina, alfaprodina	Profadol
Anilopiperidina	Fentanilo, sulfentanilo, remifentanilo	

Tabla 2. Clasificación de los opioides por su afinidad por el receptor (28)

Agonistas puros (agonistas de receptores μ, máxima actividad intrínseca)	Morfina, codeína, heroína, oximorfona, oxicodona, etorfina, levorfanol, meperidina, fentanilo, sulfentanilo, alfentanilo, remifentanilo metadona, tramadol.
Agonistas-antagonistas (actividad agonista sobre receptores κ y antagonista-agonista parcial sobre los μ)	Nalorfina, nalbufina, levalorfan, butorfanol, pentazocina, dezocina
Antagonista parcial (actividad intrínseca inferior, pueden desplazar al agonista puro)	Buprenorfina
Antagonistas puros (no tiene actividad intrínseca pero si afinidad por los receptores)	Naloxona, naltrexona, nalmeffene

Adicionalmente, los opioides también se pueden clasificar de acuerdo a su potencia analgésica en:

- Débiles como la codeína y el dextroprofeno.
- Intermedia: como la meperidina, tramadol, pentazocina.
- Potentes: Morfina, metadona, heroína, buprenorfina, fentanilo, alfentanilo y sulfentanilo.

2.2.5.4 Fentanilo

El citrato de fentanilo es un potente analgésico opiáceo, análogo sintético de la morfina, que se emplea ampliamente como anestésico narcótico en cirugía (29, 30). El fentanilo (figura 5) es un derivado sintético de la 4-anilopiperidina (31, 32). Su nombre químico N-(1-fenetil-4-piperidil) propionanilide citrato (1:1), su fórmula química $C_{22}H_{28}N_2O_7$ y su peso molecular es de 528.60. Fue sintetizado por primera vez por Jensen – Farmacéutica (Bélgica) en 1959 y fue introducido en el campo de la anestesia un año más tarde (28, 33-36). Se comercializa como citrato de fentanilo en ampollas de 5ml conteniendo 0.05mg del principio activo. Además, existen presentaciones orales (citrato de fentanilo de absorción trans mucosa) y también presentaciones para aplicación transdérmica en parches.

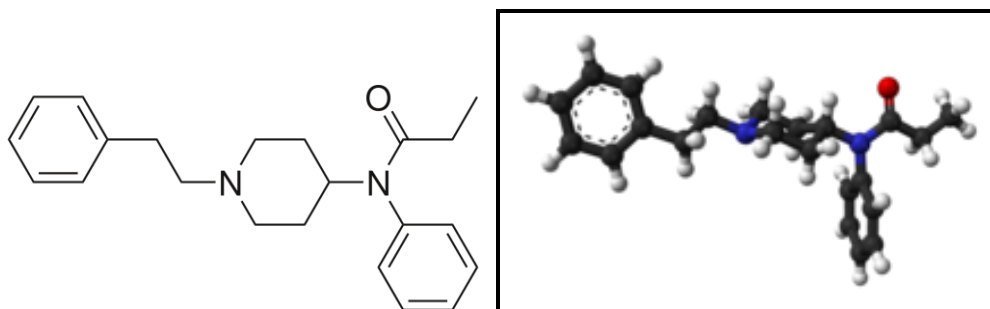


Figura 6. Estructura del Citrato de fentanilo (37)

2.2.5.5 Farmacocinética y farmacodinamia del Fentanilo

El fentanilo es de absorción fácil cualquiera sea la vía de administración. Su biodisponibilidad puede ser considerada del 100% luego de la administración endovenosa. Cuando es administrado por vía oral (transmucosa) la biodisponibilidad del principio activo en la circulación sistémica es de solo el 50% y el alivio del dolor se produce 10-15 minutos después de la ingestión y la deglución y consiguiente absorción digestiva prolongan su efecto por 3-5 horas. En los casos de administración transdérmica, la cantidad liberada del fármaco es proporcional al tamaño del parche o el área de contacto permitido con la piel del paciente y el tiempo esperado hasta alcanzar el efecto máximo es de 18-48 horas. El estado de equilibrio se establece 72 horas

después de la aplicación y puede mantenerse por el tiempo necesario mediante la renovación del parche. El tiempo de inicio de acción del fentanilo luego de su aplicación epidural es de 10-15 minutos con una duración del efecto de 4-6 horas. Los opioides son capaces de atravesar la barrera placentaria alcanzando la circulación fetal.

Los estudios farmacocinéticos del fentanilo en humanos demuestran que la curva de concentración plasmática en relación al tiempo es compartimental trifásico. Las dos primeras fases son de duración corta y parecen estar relacionadas con la difusión del fármaco en la sangre y los tejidos más irrigados. La tercera fase es mucho más lenta, pudiéndose encontrar aun 48 después de la inyección. Esta última fase parece corresponder a una redistribución tisular. Este fármaco pasa rápidamente del torrente sanguíneo al compartimento graso por lo que dosis repetidas conllevan a la saturación del mismo (38). Numerosos estudios han puesto en evidencia que la infusión continua de fentanilo por periodos de 3 horas en perros puede provocar el desarrollo de tolerancia (39).

Existen muchos reportes en la literatura que muestran experimentos realizados en animales que parecen sugerir características de la farmacocinética del fentanilo similares a las observadas en los humanos. Andersen en 1986 publico los resultados de un estudio realizado en 3 cabras, donde encontró que la curva de concentración plasmática de fentanilo en cabras encajaba con una distribución bicompartimental con $T_{1/2\alpha}$ (vida media de la fase de distribución) de entre 3.4 a 10.7 minutos, y un $T_{1/2\beta}$ (vida media de la fase de eliminación) de entre 57 a 280 minutos (40). Similares resultados fueron encontrados por Guendolyn et al. en 1998. Tadashi Sano, et al. en el 2006 evaluaron las concentraciones plasmáticas después de inyectar 10ug/kg de fentanilo vía endovenosa en perros de la raza Beagle. Sus resultados mostraron que la curva de concentración plasmática en relación al tiempo siguió un modelo bicompartimental con un $T_{1/2\alpha}$ de 4.5 ± 1.5 minutos y un $T_{1/2\beta}$ de $45. \pm 8.6$, k_{12} 0.09 ± 0.026 , k_{21} 0.05 ± 0.007 kel de 0.05 ± 0.029 , V_1 (Volumen aparente del compartimiento central) (mL kg^{-1}) 1500.0 ± 400 y V_{db} (volumen aparente de distribución del la fase beta)(mL kg^{-1}) 4939.2 ± 859 (9). En caballos Maxwell et al. En el 2003 encontró después de una inyección endovenosa de 2mg de fentanilo en caballos que la curva de concentración plasmática en relación con el tiempo mostro

un comportamiento tricompartmental con un $T_{1/2}$ primera fase de 1.2 ± 0.38 minutos, $T_{1/2}$ segunda fase de 16 ± 4.2 minutos y un $T_{1/2}$ tercera fase 130 ± 30 minutos. En un trabajo realizado en alpacas en 2016 por Lovasz M. se concluye que el fentanilo no produce analgesia a dosis de $2 \mu\text{g/kg}$ y además se realizó el análisis no compartimental de la curva del \log_{10} de la concentración plasmática en base al tiempo que presenta en sus resultados parecen mostrar una curva bicompartmental. En este trabajo se encontraron CL (mL/hr/kg) de 921 ± 189 , V_{ss} (mL/kg) de 4310.5 ± 1800 y un tiempo de vida media de 3.1 horas (1.87-7.2) (11).

Estudios realizados en humanos administrando fentanilo a ritmo constante muestran que la concentración plasmática del fármaco alcanza su plateau a la tercera hora de infusión (41). El estudio de las curvas de eliminación realizados también en este estudio evidencian el sistema de 3 fases o compartimentos arriba mencionado donde el tiempo de vida media encontrado en cada fase fue de 12 minutos, 75 minutos y 510 minutos para los cada fase respectivamente (41). Ambros et al. Encontró que la dosificación mediante una infusión a ritmo constante de 0.005 mg/kg/hr disminuyeron significativamente la nocicepción en gatos, produciendo además un aumento significativo de la anti nocicepción en estos animales(37).

2.2.5.6 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción del fentanilo no es del todo conocido, aunque se acepta que interactúa con los receptores opioides estero-específicos pre y post-sinápticos en el SNC y otros tejidos. Los opioides al unirse a los receptores opioides producen la inhibición de la actividad de la adenilciclasa, lo que imita la acción de las endorfinas endogenas (32). Este mecanismo produce la hiperpolarización de la neurona, lo que produce a su vez la supresión de la transmisión neuronal. Los opioides también evitan la liberación de los neurotransmisores al bloquear el transporte de calcio en la membrana neuronal(42-54).

La solubilidad lipídica del fentanilo es bastante elevada. Es así que su acción analgésica es de inicio rápido y de duración corta (4-5 minutos) debido a que el fármaco baja el gradiente de concentración plasmática para depositarse en musculo y tejido adiposo (55). El fármaco es

depurado de la sangre por metabolismo hepático de manera rápida. Sin embargo, la depuración de los depósitos grasos genera que su vida media sea más prolongada que la vida media de la morfina. Cuando el dolor es tratado con dosis repetidas o continuas de fentanilo, la depresión del sistema respiratorio puede ser un problema (48).

El fentanilo es metabolizado predominantemente por el citocromo P450 3A 4, principalmente en el hígado (90%). Por tanto, la disfunción hepática puede causar variabilidad en la farmacocinética del fármaco. El metabolismo del fentanilo se produce mediante la hidrólisis de la molécula, la cual puede producirse a dos niveles; a nivel del grupo propionyl, liberando ácido propionico y despropionyl fentanil o a nivel del grupo N-piperidinico, liberando ácido fenil acético y nor-fentanil. Este último, es transformado en 4-anilopiperidina. La disfunción renal, también ha sido señalada como una fuente de retardo en la eliminación de los metabolitos del fentanilo, ya que el despropionyl fentanil y la 4-anilopiperidina se eliminan por esta vía. El retardo en la eliminación de estos metabolitos y su consiguiente acumulación en sangre pueden generar depresión respiratoria prolongada. Se cree que los metabolitos del fentanilo no tienen actividad farmacológica alguna (48).

La fijación del fentanilo a proteínas plasmáticas es aproximadamente del 80% en individuos sanos, pero puede disminuir o aumentar en casos de enfermedad. Al igual que con la mayoría de opioides, la fijación plasmática del fentanilo se incrementa con el desarrollo y madurez del organismo (47).

2.2.5.7 Efectos farmacológicos del Fentanilo

Los opioides, incluyendo el fentanilo, disminuyen el componente sensorial del dolor. Adicionalmente, posee otros efectos farmacológicos como consecuencia de la amplia distribución de sus receptores en el organismo. Debido a su agonismo por los receptores μ , se ha descrito la aparición de efectos no deseables como la depresión respiratoria, bradicardia, hipotensión y disminución de la temperatura corporal (56). En el SNC. en una persona sana, el fentanilo aun usado a dosis altas, no produce modificaciones en el flujo sanguíneo cerebral,

mientras que en animales si parece disminuir. Su acción sobre el centro del vomito no está bien definida. Puede causar euforia-disforia y somnolencia. También se ha reportado la aparición de nistagmo o movimientos oculares inespecíficos. A dosis elevadas se ha descrito la aparición de actividad tónico-clónica en una o varias extremidades. Además, produce miosis sin embargo, en situaciones de sobredosis o hipoxia la miosis es sustituida por midriasis (57).

Los efectos respiratorios en pacientes humanos son notorios y la depresión respiratoria puede aparecer a dosis bajas. También se observan mayores efectos bronquiales que los observados con otros opioides, llegando a la posibilidad de producir un aumento del tono muscular que en ocasiones puede dar como resultado broncoespasmo (58); Sin embargo estos cambios no se observan de manera habitual en pacientes animales como el perro (9).

Los efectos cardiovasculares. Son pocos. En animales a dosis bajas, produce disminución de la frecuencia cardiaca que puede ser antagonizada por el uso de atropina. Puede ocasionar hipotensión como consecuencia de la liberación de histamina, disminución del tono simpático, bradicardia de origen vagal, vasodilatación y secuestro de sangre en el lecho esplácnico (58). En ausencia de normo ventilación o durante una hiperventilación, produce vasodilatación cerebral y aumento de la presión intracraneana. Adicionalmente puede retrasar el tránsito intestinal, aumenta el tono del esfínter anal, retrasa el vaciamiento gástrico (58).

En caballos el uso de fentanilo resulta limitado por el riesgo de excitación e incremento de actividad. Kamerling et al. en 1985 observo en caballos maduros el aumento de frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y actividad motriz después de la administración de 0.01mg/kg IV en bolo (59) y los mismos efectos de aparente excitación y aumento de actividad motora fueron encontrados por Mama et al. en 1993 con la aplicación de fentanilo a dosis de 20 microgramos por kg de peso vivo en caballos (60) y Sanchez et al. quienes en 2007 encontraron excitación en caballos post infusiones continuas de fentanilo (61). Sin embargo esos efectos no se han observado en potros (62), y se ha observado que a dosis de 4ugpor kilogramo resulta seguro para su utilización y en dosis de 8 hasta los 16ug por kg se observó depresión nerviosa con ataxia, rigidez muscular y aumento de actividad motora(62). De manera similar en cabras se

ha observado estados de excitación a dosis de 2.5 ug/kg con aumento de temperatura corporal, vocalización y espasmos musculares (63)

En perros Arndt et al. en 1984 encontró efectos analgésicos adecuados y ligera depresión en los pacientes a dosis entre 2.5 y 5 ug/kg, estos efectos de ligera sedación se mantuvieron hasta dosis de 20ug por kilogramos llegando a demostrar un estado de depresión marcada a 40ug por kilogramo (7) estos efectos fueron observados de manera similar por Sano et al. et al a dosis de 10ug/kg (9).

2.2.5.8 Uso del fentanilo

El fentanilo es un agonista opioide puro que altera los mecanismos de percepción del dolor mediante la inhibición de la vía sensitiva ascendente. Adicionalmente, al ser un analgésico potente y de acción rápida, se puede administrar en infusiones a ritmo constante (IRCO) cuando se desea prolongar su efecto (5). La buena tolerancia de los pacientes al uso del fentanilo en relación a la posibilidad de manifestación de alteraciones en el sistema cardiovascular o Neurológicos, lo han convertido en uno de los analgésicos opioides más seguros para el empleo intraoperatorio para el tratamiento del dolor no quirúrgico (64).

En el periodo preoperatorio, el fentanilo disminuye los efectos adversos inducidos por el dolor, disminuyendo las reacciones neurovegetativas y provocando un estado de sedación que puede acompañarse de amnesia (64). Durante el periodo de realización de las maniobras quirúrgicas el fentanilo puede ser utilizado por vía endovenosa asociado a anestésicos inhalatorios o a hipnóticos endovenosos. Para el inicio de una infusión constante utilizando fentanilo durante un acto quirúrgico, se debe asegurar primero una analgesia adecuada lo cual se logra mediante la aplicación del medicamento en bolo. La combinación del bolo de fentanilo junto con un tranquilizante mayor tipo acepromacina o xilazina, produce un estado conocido como neuroleptoanalgnesia la que facilita la preparación del paciente para el acto quirúrgico. En camélidos sudamericanos, se ha reportado el uso de analgésicos opioides con xilazina observándose resultados bastante aceptables (3).

Los opioides son también asociados con frecuencia a otros analgésicos con el fin de lograr un estado de analgesia y disminuir la posibilidad de aparición de efectos indeseables. La asociación de fármacos opioides y no opioides se suele utilizar en el tratamiento del dolor y estas son administradas por diferentes medios de administración (sistémica, epidural, bolos, etc)(65).

Numerosos estudios clínicos dan cuenta de la eficacia del fentanilo cuando es administrado por vía transdérmica sobre todo en pacientes oncológicos. En estos pacientes se ha demostrado una buena tolerancia, aunque se han presentado trastornos de piel tipo irritación a consecuencia de la forma de administración (66, 67). Adicionalmente, el fentanilo puede ser administrado vía transmucosa oral especialmente en los casos en el que el dolor no es constante y se presenta por episodios. El fentanilo administrado por esta vía presenta un rápido inicio de aparición de los efectos analgésicos y una duración de alrededor de 30 minutos, que se considerada corta, además resulta cómodo para los pacientes (57).

En animales es importante la evaluación de los efectos en las diferentes especies animales debido a que como se ha mencionado existen especies como los caballos en los que los efectos adversos como aumento de motilidad puede ser peligroso para el paciente y sus operarios (59, 60, 68, 69) mientras que en otros pacientes como en los caninos es una de las drogas preferidas para ser usadas en el aporte analgésico de los procedimientos que así lo requieran (7, 9, 29, 38, 49, 51, 65, 70)

2.2.5.9 Uso de Fentanilo en Analgesia en Alpacas

La importancia de la producción de camélidos sudamericanos en nuestro país y en el mundo plantea la necesidad de implementación de protocolos anestésicos ya sea para facilitar el manejo de los animales por alguna maniobra de interés zootécnico o para el desarrollo de protocolos quirúrgicos en pacientes con alguna dolencia particular (2, 71). Ante esta necesidad los médicos veterinarios utilizan protocolos extrapolados de otras especies con resultados muy variables (5, 71, 72). Además en nuestra realidad los profesionales no disponen de productos farmacológicos variados para su uso en analgesia veterinaria por lo que los protocolos utilizados en los centros de producción suelen ser deficitarios en este aspecto y se buscan constantemente alternativas

diferentes para lograr el aporte analgésico en los protocolos quirúrgicos. Esto genera en nuestro país altos grados de morbilidad y mortalidad en estos animales por lo que muchas veces se prefiere la no realización de los procedimientos quirúrgicos recurriéndose al sacrificio de los animales afectados a pesar de su alto valor.

Los reportes del uso de Fentanilo en alpacas son muy limitados en la literatura y responden principalmente a experiencias aisladas de realidades diferentes a las nuestras donde estos animales son tenidos como mascotas (3, 73). Y los resultados de su uso resultan contradictorios. Tinkler et al. (2015), reporta el uso de 5ug/kg de fentanilo para facilitar la intubación en una cría alpaca prematura y el uso de surfactante de equino y ventilación asistida a presión positiva logrando la sobrevivencia del animal (74). En otro reporte Larenza et al. (2008), menciona el uso de anestesia multimodal con fentanilo a 2ug/kg, 3mg/kg de ketamina y 0.4mg/kg de midazolam en un paciente de riesgo alta para una cirugía de la cavidad oral. Este paciente sufrió disminución marcada de la frecuencia cardiaca e hipoxemia marcada por lo que tuvo que recibir maniobras de resucitación que permitieron que el paciente sobreviva (75). Los datos más relacionados al presente trabajo los da Lovasz M. en su trabajo de tesis de maestría en 2016, donde reporta la evaluación de los resultados después de la inyección endovenosa de 2ug/kg o la aplicación transdérmica de la misma dosis en alpacas. En sus resultados Lovasz reporta que no encontró ningún efecto de analgesia o depresión de los animales que recibieron una dosis endovenosa de fentanilo de 2ug por kg, por lo que cuestiona la participación de esta droga dentro de los protocolos anestésicos(11). Además, a pesar de que la curva del logaritmo de la concentración plasmática en relación al tiempo que presenta después del análisis de las muestras obtenidas mediante HPLC, muestra claramente un comportamiento compartimental el investigador utilizó un análisis no compartimental de los datos por lo que las constantes farmacocinéticas que muestra, principalmente el valor de vida media de 3.1 hr, resultan discutibles (11).

2.2.5.10 Evaluación de la analgesia:

En humanos se reconoce que el dolor es una experiencia desagradable con componentes emocionales, afectivos, psicológicos y autosómicos, muy compleja para su evaluación (13, 34, 66, 76, 77). Y se reconoce que esta dificultad de evaluación resulta mucho mayor cuando se trata

de pacientes neonatos que no poseen capacidad de expresar lo que están sintiendo, Jhonson et al. en 1986 menciona que los neonatos suelen experimentar dolor en procedimientos a los que son sometidos de manera rutinaria, como en las tomas de muestras sanguíneas o durante la circuncisión, sin medicación analgésica adecuada por que se tiene la idea que su sistema nervioso no está lo suficientemente desarrollado como para percibir y expresar el dolor, sin embargo menciona que los bebés demuestran su experiencia dolorosa de maneras diferentes y además encuentra que la elevación de la frecuencia cardíaca es un indicativo del dolor en estos pacientes. El concepto de la diferencia en la capacidad de sentir y expresar dolor y en la necesidad de uso de analgésicos esta aun presente en la medicina veterinaria (38, 78), lo que ha llevado a algunos colegas a pensar que en animales no se puede discutir de Dolor, al menos no en la forma en que se conceptualiza en el humano (79). Por esto la evaluación de la respuesta de los animales a los estímulos nociceptivos muchas veces resulta desafiante, y se basa en la búsqueda de cambios fisiológicos o de comportamiento como respuesta a los estímulos adversos, las pruebas de nocicepción debería ser fáciles de realizar, repetibles y permitir una medición clara, además de no producir daños que limiten al paciente (11, 80) . Los estímulos pueden ser mecánicos, térmicos, eléctricos o químicos. En caballos se han utilizado los estímulos eléctricos en la boca, estímulos eléctricos en el casco o electroestimulación nerviosa. La compresión de la base de la cola ha sido utilizada como estímulo nociceptivo usado en el perro Joachim O. et al., quienes reportan la elevación de la frecuencia cardíaca como respuesta vegetativa al estímulo doloroso y su inhibición como respuesta a la inyección de fentanilo dependiente de la dosis alcanzada (7)

En animales se han desarrollado en algunas especies como perros y caballos tablas que unen componentes comportamentales con evaluación de constantes fisiológicas para poder evaluar el dolor en los pacientes (79), sin embargo estas tablas son especie específica y necesitan de mucha investigación y observación en cada especie animal en particular.

Durante la evaluación de los protocolos anestésicos, cuando el paciente está en un estado similar al sueño fisiológico, la monitorización anestésica busca controlar las respuestas vegetativas simpáticas que se producen como resultado del estímulo nociceptivo traumático, por eso la

evaluación de la frecuencia cardiaca en los pacientes es de mucha importancia y se acepta como uno de los primeros indicios del dolor no controlado durante el procedimiento quirúrgico.

2.3 Términos de Referencia (Glosario de términos)

Alpaca: o *Vicugna pacos*, es una especie doméstica de mamífero artiodáctilo de la familia Camelidae. Genéticamente deriva mayormente de la vicuña salvaje y en una proporción mucho menor de la llama (*Lama glama*) (81).

Fentanilo: Fármaco opioide del grupo de las fenilpiperidinas, agonista puro de los receptores mu 100 veces más potente que la morfina muy usado para aportar analgesia en protocolos quirúrgicos en diferentes especies (27, 82).

Farmacocinética: La farmacocinética es el estudio de los eventos a los que es sometido el fármaco desde que es administrado en un organismo hasta que es eliminado de él. (9).

Tiempo de vida media: La vida media es el tiempo en el cual la concentración plasmática de un fármaco disminuye a la mitad de su valor máximo. (9).

Dolor: Sensación desagradable producida por el daño actual o potencial de los tejidos. Es un evento subjetivo que depende de la experiencia y aprendizaje del ser (27).

Nocicepción: Estimulo nervioso producido por el daño actual o potencial de los tejidos, capaz de generar respuestas vegetativas simpáticas que permitirían al animal gestionar respuestas a dichos estímulos conocidas como respuestas de enfrentamiento o huida (27, 83).

CAPITULO III: Metodología

3.1 Tipo y Diseño de Investigación

Tipo de investigación

Este trabajo desarrollo un tipo de investigación Experimental en tres fases.

Diseño de investigación

En la primera fase se evaluó la respuesta de los animales a tres diferentes estímulos dolorosos para seleccionar el estímulo a ser usado en las fases experimentales posteriores.

En la segunda fase experimental se observó los resultados de la inyección endovenosa de Fentanilo en tres dosis endovenosas únicas diferentes, para encontrar la dosis analgésica de fentanilo y las constantes farmacocinéticas del fentanilo en alpacas.

En la tercera fase experimental se evaluaron los resultados de tres protocolos diferentes de infusión a tiempo constante de fentanilo, para encontrar una dosis que permita prolongar los efectos analgésicos por 30 minutos.

3.2 Unidad de Análisis

En el presente trabajo se utilizó 30 alpacas machos de dos años procedentes del Centro de Investigación del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (CI-IVITA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) ubicada en Maranganí, Provincia de Canchis, departamento de Cusco. El manejo de las muestras de sangre se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM y el análisis de los resultados en la Facultad de Medicina Humana de la UNMSM departamento de Farmacología.

3.3 Población de Estudio

El último dato publicado del Instituto Nacional de Estadística e Informática, según los resultados del IV Censo Nacional Agropecuario 2012 muestran que la población de Alpacas en el Perú es de tres millones quinientos noventa y dos mil doscientos cuarenta y nueve animales.

El CI-IVITA Marangani cuenta con una población estándar de 200 alpacas que se crían en condiciones naturales altoandinas y se alimentan con pastos cultivados producidos en instalaciones propias.

3.4 Tamaño de muestra

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron 30 alpacas macho de dos años propiedad del centro de investigación IVITA-UNMSM, seleccionados aleatoriamente de una punta de 50 animales. En cada parte del estudio los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos de experimentación.

Criterios de inclusión:

- 1 Animales machos adultos jóvenes de 2 años de edad,
- 2 Clínicamente sanos al examen médico y desparasitados.
- 3 Peso mayor a 35 kilogramos

Criterios de exclusión:

- 1 Cualquier anomalía al examen clínico.
- 2 Alpacas Hembra
- 3 Edad menor de 2 o mayor de 3 años.

3.5 Selección de Muestra

Para ser aceptados dentro del experimento los animales de la punta de machos adultos jóvenes fueron sometidos a un examen clínico. Los animales que se encontraron clínicamente sanos fueron desparasitados, se sometieron a observación y se realizó la primera parte del

experimento evaluando su respuesta a tres estímulos dolorosos. La segunda parte se realizó luego de un periodo de 14 días de observación y descanso y finalmente se permitió un periodo de descanso de 45 días antes de realizar la tercera parte del experimento.

3.6 Métodos y Procedimientos

3.6.1 Experimento 1: Evaluación de la respuesta fisiológica a los estímulos dolorosos

En base a observaciones realizadas en estudios previos (datos no publicados), la alta variabilidad de las respuestas al estímulo doloroso reportada en camélidos (6) y con el fin de seleccionar el método de estimulación dolorosa para ser usado en los siguientes experimentos, se decidió evaluar y validar la técnica de estimulación dolorosa en Alpacas. Para esto los animales se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos de 10 alpacas cada uno. Se realizó la comparación de la frecuencia cardiaca basal (Sin estímulo doloroso) y su variación (Frecuencia cardiaca basal – Frecuencia cardiaca durante el estímulo) en respuesta a la aplicación de tres estímulos dolorosos (84), de manera similar al método de estímulo doloroso utilizado por Arndt et al. 1984 en perros(7). Los estímulos evaluados fueron Grupo 1 Compresión de falanges, Grupo 2 Compresión de membranas interdigitales y Grupo 3 Compresión de la base de la oreja. La compresión mecánica fue realizada con una pinza hemostática de Kelly de 14 cm.

3.6.2 Experimento 2: Evaluación de los efectos de la inyección endovenosa de tres diferentes dosis de Fentanilo en Bolo

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres diferentes grupos de 10 animales cada uno para la aplicación de una inyección endovenosa en bolo (dosis única) de Fentanilo:

- Grupo1: 0.0025 mg/Kg PV. De manera similar a lo reportado por Lovasz 2017(11)

- Grupo 2: 0.0050 mg/Kg PV. De manera similar a lo reportado por Espezua 2015 (10)
- Grupo 3: 0.0075 mg/Kg PV.

La dosis del fármaco correspondiente a cada grupo se colocó vía endovenosa a través de un catéter endovenoso colocado en la vena yugular.

3.6.2.1 Toma de Datos:

Se evaluó la frecuencia cardíaca basal y ante el estímulo doloroso antes de la inyección del fármaco, y en los tiempos 0 (apenas finalizada la inyección), 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 y 15 minutos post inyección. La frecuencia respiratoria y presencia de reflejos se evaluó de manera simultánea a la evaluación de la frecuencia cardíaca basal en cada observación. La toma de datos de frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria se realizó con la ayuda de estetoscopios Littman Clasic II (16), dado que se intentó la utilización de un monitor multiparamétrico IM-100 Innomed Medical Inc. pero que no registraba los datos de manera adecuada en las condiciones de campo donde se realizó el experimento.

3.6.2.2 Evaluación de la sedación

Inmediatamente después de la inyección del fármaco se evaluó el grado de sedación de los animales en base a la escala utilizada en alpacas por Lovasz et al.(11) en la que Grado 0 indica sin aparente sedación, Grado 1 indica leve sedación mostrando la cabeza hacia abajo y protrusión del labio inferior, Grado 2 indica signos de sedación aparente con ataxia sin tomar posición de decúbito, Grado 3 indica obvia sedación y decúbito esternal aunque las alpacas responden a estímulos y Grado 4 indica obvia sedación sin capacidad a responder a estímulos.

3.6.2.3 Evaluación de la Respuesta al dolor

Para la evaluación de la respuesta al dolor se utilizó la compresión de la base de la oreja como estímulo nociceptivo “doloroso”. La elevación de la frecuencia cardíaca provocada por este estímulo (Frecuencia cardíaca durante estímulo – Frecuencia cardíaca basal, en cada observación) es una manifestación de dolor, de manera similar a lo reportado por Arndt J. et al.1984 (7)

3.6.2.4 Evaluación de la concentración plasmática de Fentanilo

Después de realizadas las evaluaciones se procedió a tomar una muestra sanguínea de 5ml haciendo uso de tubos estériles sellados del sistema Vacutainer (Becton y Dickinson) conteniendo EDTA en los tiempos: 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 5000 x g durante 10 minutos y el plasma fue guardado a -80C hasta la realización de las pruebas cromatográficas, de manera similar a lo reportado por Sano et al.2006 (9).

El estudio de la concentración plasmática de fentanilo se realizó haciendo uso de la técnica de cromatografía líquida de alta performance descrita por Kumar en 1996. Esta técnica utiliza una curva estándar para determinar la concentración de las muestras problema y ha demostrado ser altamente sensible y específica. Para la elaboración de la curva estándar, se preparó una solución stock de 1 mg/ml de citrato de fentanilo en metanol. La solución stock fue diluída de manera seriada en agua milliQ (Millipore Corporation) hasta obtener soluciones de 10, 20, 50, 100 y 500 ng/ml. Las soluciones fueron mantenidas en refrigeración (4°C). Los estándares se prepararon mediante adición de las soluciones en plasma de alpaca. Las concentraciones finales de los estándares fueron: 1, 2, 5, 10, 20 y 50 ng/mL.

Las muestras problema y los estándares fueron sometidos a la fase de extracción. 1 ml de cada una de las muestras problema y de los estándares fueron mezclados suavemente con 200µl de hidróxido de potasio (KOH; 0.5M). A esta solución se le añadió 4 ml de una solución de heptano: alcohol isoamilico en proporción 98:2 v/v respectivamente. Seguidamente la mezcla fue centrifugada a 420 x g durante 15 minutos a 25°C. El sobrenadante o fase orgánica fue transferido a tubos estériles conteniendo 200 µl de fosfato bihidrogenado de potasio (KH₂PO₄;

0.01M; pH de 2.8). Esta mezcla fue centrifugada nuevamente a 420g x 15 minutos a 25°C. El sobrenadante, en este caso la fase acuosa fue separado para ser analizado.

El análisis cromatográfico fue realizado en un aparato de cromatografía líquida de alta performance Agilent 1100, acoplado a una fase estacionaria o columna y a un lector de emisión ultravioleta o espectrofotómetro. El sistema fue operado a temperatura ambiente (25°C). 100 µl tanto de las muestras como de los estándares fueron inyectados en una columna Econosphere CN de 5µm (150mm x 4.6mm) de la empresa Alltech Associates Inc. a una velocidad de 1ml/minuto. La fase móvil utilizada fue una solución de fosfato bihidrogenado de potasio (KH₂PO₄; 0.01M; pH2.8). El pH de la solución fue ajustado utilizando una solución de ácido ortofosfórico al 85% (H₃PO₄) y acetonitrilo en proporción 65:35 v/v respectivamente. La fase móvil fue filtrada a través de un filtro de 0.45µm (Millipore, Bedford) y de-gasificada al vacío antes de ser utilizada. Los estándares fueron procesados al inicio, al medio y al final de cada sesión para asegurar la estabilidad de las muestras. La lectura de los componentes eluidos se realizó a 190nm.

3.6.3 Experimento 3: Evaluación de los efectos de la inyección endovenosa de Fentanilo en tres dosis de infusión a ritmo constante (IRCO)

Con el fin de evaluar el efecto de tres dosis diferentes de IRCO de Fentanilo en alpacas, los animales fueron evaluados clínicamente para determinar su buen estado de salud 45 días después de realizado el Experimento 2. Los animales fueron divididos en tres grupos diferentes de 10 animales cada uno. Cada Grupo recibió una dosis inicial de 0.0075mg de Fentanilo, según los resultados del experimento anterior. Seguidamente se procedió a instalar una IRCO endovenosa de fentanilo durante 30 minutos con la ayuda de una bomba de infusión MP - 1000 DAIWA de manera similar a lo reportado en perros por Sano et al. 2006 (9). En base a las dosis de infusión continua reportadas por Lovasz 2017 (11) y Espezua 2015 (10). Las dosis de IRCO que recibió cada grupo se describen a continuación:

- Grupo 1: 0.003 mg/kg/hora.
- Grupo 2: 0.006 mg/kg/hora.
- Grupo 3: 0.009 mg/kg/hora.

3.6.3.1 Toma de datos:

Se evaluó la frecuencia cardiaca basal y ante el estímulo doloroso antes de la inyección del fármaco, y en los tiempos 0 (apenas finalizada la inyección), 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 25 y 30 minutos post inyección. La frecuencia respiratoria y presencia de reflejos se evaluó de manera simultánea a la evaluación de la frecuencia cardiaca basal en cada observación. La toma de datos de frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria se realizó con la ayuda de estetoscopios Littman Clasic II.

3.6.3.2 Evaluación de la Sedación

Inmediatamente después de la inyección del fármaco se evaluó el grado de sedación de los animales usando la tabla de Lovasz,(11). Además, se registró el tiempo de permanencia de los animales en el estado de sedación.

3.6.3.3 Evaluación de la Respuesta al dolor

Para la evaluación de la respuesta al dolor se utilizó la compresión de la base de la oreja como estímulo nociceptivo “doloroso” y se midió la elevación de la frecuencia cardiaca provocada por este estímulo (Frecuencia cardiaca durante estimulo – Frecuencia cardiaca basal), en cada observación) como manifestación de dolor, de manera similar a lo reportado por Arndt J. et al.(7)

3.6.3.4 Evaluación de la concentración Plasmática de Fentanilo

Después de realizadas las evaluaciones se procedió a tomar una muestra sanguínea de 5ml haciendo uso de tubos estériles sellados del sistema Vacutainer (Becton y Dickinson) conteniendo EDTA en los tiempos: 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20,30, 45, 60, 90, 120, 180 y

240 minutos de manera similar a lo reportado por Sano et al. 2006 (9). Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 5000 x g durante 10 minutos y el plasma fue guardado a -80C hasta la realización de las pruebas cromatográficas de manera similar al experimento anterior.

3.7 Análisis e interpretación de la Información

Para el análisis de los datos estadísticos se utilizó el programa IBM SPSS statistics 27 (2020). Los datos de sedación se presentaron en una tabla de contingencia y se analizó con la prueba de chi cuadrado. Los datos de frecuencia cardiaca fueron evaluados con la prueba de anova de muestras múltiples, la significancia estadística será evidente cuando $p \leq 0.05$.

Los Datos de concentración plasmática de fentanilo fueron analizados con el programa PKSolver para Excel (85).

3.8 Consideraciones éticas

Este trabajo fue evaluado aprobado y subvencionado por el Consejo Superior de Investigación del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) como parte de un Estudio de Investigación Multidisciplinario entre la Facultad de Medicina Humana y la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

Todos los animales se manejaron siguiendo los Principios y Directrices Internacionales para la investigación Biomédica que implique el uso de Animales, dados por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS), Ginebra, 1985.

Capítulo IV: RESULTADOS

4.1 Experimento 1

Evaluación de la respuesta fisiológica a los estímulos dolorosos.

La evaluación de la respuesta fisiológica a los estímulos dolorosos se realizó en los 30 animales usando las técnicas descritas en la metodología. Los resultados de esta evaluación se resumen en la Tabla 4 donde se muestra los resultados de la frecuencia cardiaca de los 30 animales, divididos en tres grupos de tratamiento, antes de cualquier estímulo (Basal) y luego con los tres diferentes estímulos dolorosos (compresión digital, compresión de falanges y compresión en la base de la oreja). Estos resultados muestran que los promedios de frecuencia cardiaca a la compresión interdigital (108.6 ± 2.27) y a la compresión de falanges (106.87 ± 2.37) son muy similares entre sí y muy similares a los valores basales (108.07 ± 2.23), mientras que cuando se produjo la compresión en la base de la oreja el valor de la frecuencia cardiaca (115 ± 2.17) muestra que existe una elevación de la frecuencia en comparación al valor de la frecuencia cardiaca basal (108.07 ± 2.23). Al evaluar la elevación de la frecuencia cardiaca producida por cada estímulo doloroso en relación a la frecuencia cardiaca basal de cada animal (frecuencia cardiaca al estímulo – frecuencia cardiaca basal) se observa que la elevación de la frecuencia cardiaca en la compresión de la base de la oreja (6.93 ± 1.34) muestra diferencias estadísticas significativas en comparación a los otros tratamientos (compresión interdigital= 0.533 ± 1.33 ; compresión de falanges= -1.2 ± 1.30) ($p < 0.05$) (Tabla 5).

Tabla 3. Frecuencia cardiaca promedio basal y en respuesta a tres estímulos dolorosos en Alpacas

Frecuencia cardiaca (latidos/minuto)	Promedio +/- SE	Intervalo de confianza (95%)
Basal	108.07 +/- 2.23	103.52 – 112.62
A la compresión interdigital	108.6 +/- 2.27	104.05 – 113.15
A la compresión de falanges	106.87 +/- 2.37	102.02 – 111.71
A la compresión de la base de la oreja	115 +/- 2.17	110.56 – 119.41

Tabla 4. Variación de la Frecuencia cardiaca (V.F.C.) en los animales en respuesta a un estímulo doloroso (frecuencia cardiaca durante el estímulo – frecuencia cardiaca basal).

Estímulo doloroso	Promedio de V.F.C. +/- SE.	Intervalo de confianza al 95%
Compresión interdigital	0.533 ± 1.33 (*a)	-2.18 - 3.24
Compresión de falanges	-1.2 ± 1.30 (*a)	-3.86 - 1.46
Compresión de base de Oreja	6.93 +/- 1.34 (*b)	4.19 - 9.68

*Letras diferentes en la columna muestran diferencias estadísticas significativas

p<0.05

4.2 Experimento 2: Evaluación de los efectos de la inyección endovenosa de tres diferentes dosis de Fentanilo en Bolo.

4.2.1 Evaluación de la Sedación

Luego de la aplicación del bolo de fentanilo se observó que los animales mostraban un estado de depresión consiente manifestado al colocarse en decúbito esternal, sin manifestaciones intermedias pasando según la escala utilizada del Grado0 al Grado3 de depresión. No se observó en ningún animal un estado de depresión de Grado1 o Grado2. En el Grupo 1 dos de los diez animales (20%) presentaron el Grado3 de depresión, en el Grupo 2 cuatro de los diez animales (40%) presentaron el estado de depresión Grado3 y en el Grupo 3 nueve de los diez (90%) de los animales mostro el Grado3 de depresión (Tabla 3). El análisis estadístico demostró que existe una relación estadísticamente significativa, alta y directamente proporcional entre la dosis recibida en cada grupo de tratamiento y el número de animales que se encontraron sedados después de la inyección endovenosa del fármaco (coeficiente de contingencia 0.507, $p < 0.05$).

Tabla 5. Tabla de contingencia de los tres grupos de tratamiento y el número de alpacas que mostro sedación en cada grupo

Grupo de tratamiento (latidos/minuto)	Sedación		Total
	Normal	Decúbito	
0.0025 mg.	8(80%)	2 (20%)	10
0.005 mg.	6(60%)	4 (40%)	10
0.0075 mg.	1(10%)	9 (90%)	10
Total	15	15	

Después de la aplicación endovenosa del fentanilo la frecuencia respiratoria se mantuvo sin alteración en todos los grupos evaluados. Además, la intensidad de pulso, respuesta a reflejos palpebral medial y de retirada se encontraron presentes y sin cambios con respecto a la

evaluación antes de la inyección del fentanilo en todos los grupos de tratamiento.

4.2.2 Evaluación de la Frecuencia cardiaca

La frecuencia cardiaca de los animales de los tres diferentes grupos de tratamiento (Grupo1: 0.0025 mg/kg, Grupo2: 0.005 mg/kg y Grupo3: 0.0075 mg/kg) fue registrada antes de la inyección, apenas inyectado el bolo de fentanilo (tiempo 0) y en cada una de las observaciones realizadas en los tiempos 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 y 15 minutos post inyección. En el Grupo1 y el Grupo2 se suspendieron las evaluaciones al minuto 10 por que los animales se mostraban reacios a ser manejados y realizaban diferentes grados de vocalización durante el desarrollo de las maniobras, por lo que las tablas solo muestran las observaciones en los tiempos 12.5 y 15 para el Grupo3, en el que los animales permitieron el manejo y la evaluación necesaria hasta el final de las observaciones (Tabla 7).

Los valores promedio de la frecuencia cardiaca antes de la inyección del fármaco en el grupo Grupo1 (94.8 ± 2.53), Grupo2 (94.22 ± 1.90) y Grupo3 (90.4 ± 4.78) fueron similares entre sí ($p > 0.05$). Inmediatamente después de la inyección endovenosa del bolo de fentanilo (T0) se observó que los valores promedio de la frecuencia cardiaca en el Grupo1 (94.8 ± 2.53) y Grupo2 (94.22 ± 1.90) se mantuvieron similares entre sí y similares al promedio medido antes de la inyección, mientras que en el Grupo3 (84 ± 6.56) se observó que la frecuencia cardiaca mostro un valor menor que la encontrada en la evaluación pre inyección aunque sin diferencias significativas $p > 0.05$. En las evaluaciones realizadas en los tiempos 2.5 y 5 en el Grupo1 y Grupo2 se observa que el valor de frecuencia cardiaca se mantuvo similar al encontrado en la evaluación pre inyección. Además en la observación realizada en el minuto 7.5 el valor de la frecuencia cardiaca basal en el Grupo1 (98 ± 2.88) y en el Grupo2 (96.89 ± 2.48) fueron ligeramente mayores a los respectivos valores pre inyección y en la observación realizada en el minuto 10 los valores de frecuencia cardiaca basal en el Grupo 1 (100.8 ± 2.44) y Grupo 2 (100.44 ± 3.43) fueron ligeramente mayores que antes de la inyección de fentanilo. Sin embargo

en el Grupo3 los valores de la frecuencia cardiaca se mantuvieron debajo de los valores pre inyección en todas las evaluaciones observándose dos etapas, la primera con una tendencia a la disminución de los valores basales en los tiempos 0 (84+/-6.56), 2.5 (76.8+/-4.08) y 5 (76+/-4.54) y una lenta tendencia a la elevación en los tiempos 7.5 (80.4+/-4.14), 10 (81.6+/-4.51), 12.5 (80.8+/-4.53) y 15 (83.2+/-4.53).

Tabla 6. Promedio de la frecuencia cardiaca en alpacas tratadas con 0.0025 (Grupo 1), 0.005 (Grupo 2) y 0.0075 (Grupo 3) mg/kgPV de fentanilo por vía endovenosa en dosis única. El cuadro muestra el promedio de la frecuencia cardiaca de cada grupo de tratamiento antes y después del tratamiento +/- SE. El tiempo 0 indica el momento de la inyección.

Tiempo (minutos)	Grupo 1 Promedio FC +/- SE (latidos/minuto)	Grupo 2 Promedio FC +/- SE (latidos/minuto)	Grupo 3 Promedio FC +/- SE (latidos/minuto)
Pre-tratamiento	94.8 ± 2.53	94.22 ± 1.90	90.4 ± 4.78
0	97.2 ± 2.39	94.22 ± 1.51	84 ± 6.56
2.5	96.8 ± 2.37	94.22 ± 2.84	76.8 ± 4.08
5	97.2 ± 2.92	95.1 ± 2.62	76 ± 4.54
7.5	98 ± 2.88	96.89 ± 2.48	80.4 ± 4.14
10	100.8 ± 2.44	100.44 ± 3.43	81.6 ± 4.51
12.5			80.8 ± 4.53
15			83.2 ± 4.53

4.2.3 Evaluación de la respuesta al dolor

Después de la evaluación de la frecuencia cardiaca basal en los diferentes tiempos se procedió a la estimulación nociceptiva mediante la compresión de la base de la oreja para medir la frecuencia cardiaca durante el estímulo. La Tabla N4 muestra los valores de la elevación de la frecuencia cardiaca durante el estímulo doloroso en los tres Grupos de tratamiento. La elevación de la frecuencia cardiaca como producto del estímulo doloroso fue similar en los tres grupos de tratamiento antes de la inyección del fármaco ($p>0.05$). En la observación inmediatamente después de la inyección del fentanilo en bolo se observó una ligera disminución en el Grupo1 y Grupo2 mientras que en el Grupo3 se observó una significativa disminución ($p<0.05$). Esta diferencia estadística significativa entre el grupo 3 y los otros dos grupos de tratamiento se mantuvo en las observaciones realizadas en los tiempos 2.5 y 5 minutos después de iniciados los tratamientos $p<0.05$. A partir del minuto 7.5 la aunque la elevación de la frecuencia cardiaca como respuesta al estímulo doloroso sigue siendo ligeramente menor que en los Grupos 1 y 2, la diferencia estadística entre los grupos se pierde ($p>0.05$)

Tabla 7. Promedio de la elevación de la frecuencia cardiaca \pm SE, en alpacas tratadas con 0.0025 (Grupo 1), 0.005 Grupo 2) y 0.0075 (Grupo 3) mg/kg de Fentanilo por vía endovenosa en dosis única a través del tiempo.

Tiempo en Minutos	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Pre-tratamiento	13.6 \pm 1.22 (*a)	12.4 \pm 1.39 (*a)	9.6 \pm 1.22 (*a)
0	8.8 \pm 1.22 (*a)	8 \pm 1.26 (*a)	-10.8 \pm 1.66 (*b)
2.5	12.4 \pm 1.39 (*a)	10.8 \pm 1.58 (*a)	0.8 \pm 0.8 (*b)
5	9.6 \pm 1.22 (*a)	8.8 \pm 1.55 (*a)	2 \pm 1.07 (*b)
7.5	12.4 \pm 2.02	10 \pm 1.61	6.6 \pm 1.26
10	13.6 \pm 1.22	7.2 \pm 1.64	8 \pm 1.22
12.5			8.8 \pm 1.39
15			7.2 \pm 1.64

*Letras diferentes en los diferentes tiempos muestran diferencias estadísticas significativas entre los grupos

En las Figuras 4, 5 y 6 se observa la gráfica de la frecuencia cardiaca y la elevación por efecto de la compresión de la base de la oreja en las diferentes observaciones a través del tiempo, en el Grupo 1 y Grupo2 se observa que existe una pequeña disminución apenas realizada la inyección endovenosa del fentanilo T0, pero que se recupera rápidamente en las siguientes evaluaciones. En el Grupo 3 se observa que hasta la evaluación en el minuto 5 la elevación de la frecuencia cardiaca como respuesta al estímulo casi desaparece y aunque a partir del minuto 7.5 se pierde la diferencia estadística entre los grupos, la elevación de la frecuencia cardiaca no alcanzó los valores observados antes de la inyección del fármaco.

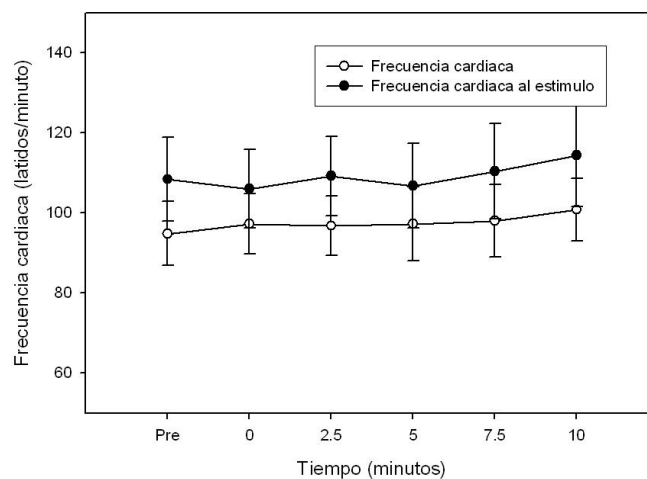


Figura 7. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0025 mg/KPV de fentanilo. Se muestra la fluctuación en el promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (círculos vacíos) y de la frecuencia cardiaca en respuesta al estímulo (círculos negros) hasta 10 minutos después de la aplicación del fármaco.

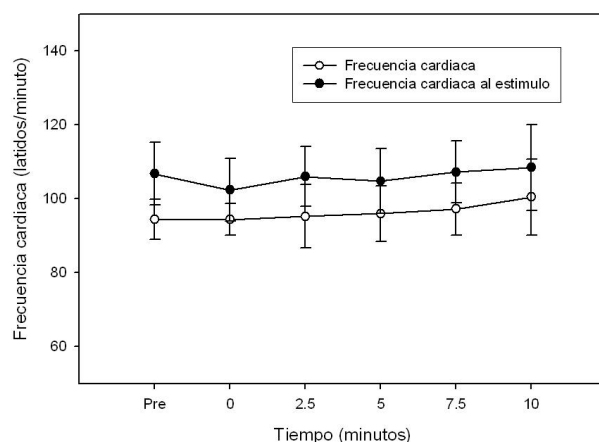


Figura 8. Promedio de la frecuencia cardiaca en reposo y en respuesta al estímulo doloroso en animales tratados con 0.005 mg/KPV de fentanilo. Se muestra la fluctuación en el promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (círculos vacíos) y de la frecuencia cardiaca en respuesta al estímulo (círculos negros) hasta 10 minutos después de la aplicación del fármaco.

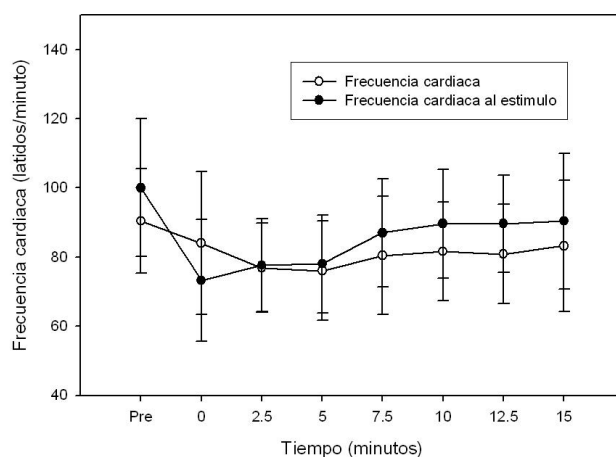


Figura 9. Promedio de la frecuencia cardiaca en reposo y en respuesta al estímulo doloroso en animales tratados con 0.0075 mg/KPV de fentanilo. Se muestra la fluctuación en el promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (círculos vacíos) y de la frecuencia cardiaca en respuesta al estímulo (círculos negros) hasta 10 minutos después de la aplicación del fármaco

4.2.4 Concentración Plasmática de fentanilo

El examen de Cromatografía líquida de alta performance permitió conocer los valores de la concentración plasmática de fentanilo en las observaciones a los 2.5,5,7.5,10,12.5, 15,17.5, 20, 30,45, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos post inyección endovenosa de fentanilo a dosis de 0.0075mg/kg, mostrados en la tabla 9.

Tabla 8. Valores de la concentración plasmática de Fentanilo en ng/ml y el SE en alpacas después de la inyección de 0.0075mg en bolo por vía endovenosa (Bolo).

Tiempo en minutos	Concentración (ng/ml)	Error estándar
2.5	8.13	0.24
5	6.27	0.33
7.5	4.71	0.27
10	3.11	0.15
12.5	2.05	0.05
15	1.49	0.06
17.5	1.02	0.05
20	0.81	0.3
30	0.72	0.3
45	0.60	0.02
60	0.51	0.02
90	0.39	0.02
120	0.30	0.01
180	0.20	0.01
240	0.14	0.01

Los valores promedio del logaritmo de la concentración plasmática de fentanilo en cada tiempo de observación permitieron la visualización de la curva de la cinética plasmática del Fentanilo en alpacas (Figura 5). Luego de la administración endovenosa, la disminución inicial de la concentración plasmática de fentanilo es bastante rápida y ocurre aproximadamente durante los primeros 20 minutos. Esto se evidencia en la gráfica mediante la formación de una pendiente pronunciada en la curva de concentración. Luego la pendiente de la curva se hace menos pronunciada y puede observarse que la disminución de los valores plasmáticos se torna mucho más lenta y progresiva en el tiempo.

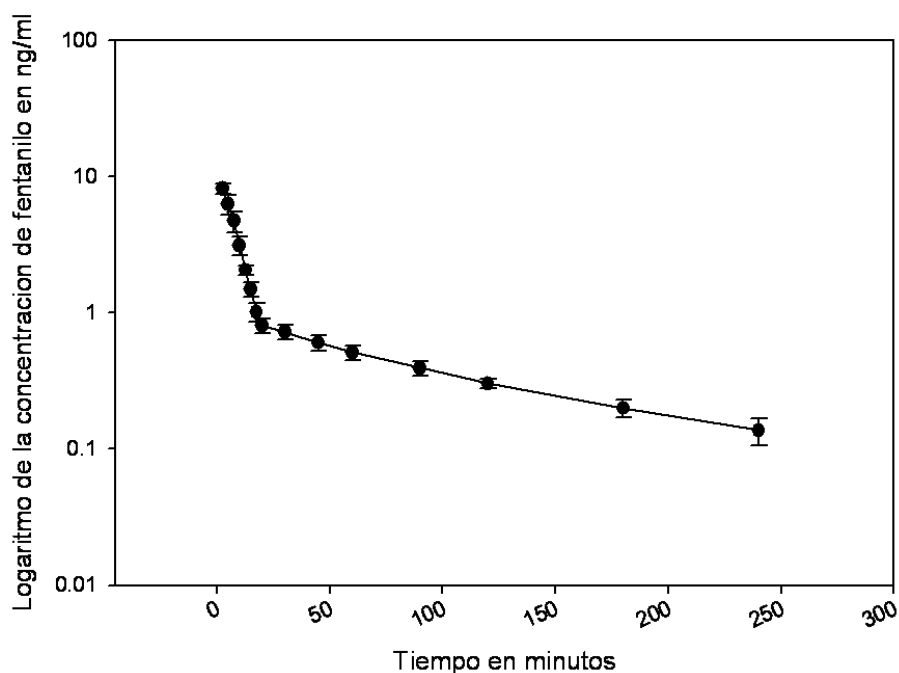


Figura 7. Promedio \pm SD del logaritmo de las concentraciones plasmáticas de fentanilo después de la administración EV de 0.0075 mg/kg de peso vivo en 10 alpacas. Tiempo 0 = tiempo de la administración de fentanilo.

El análisis de la gráfica de la curva de concentración plasmática de fentanilo, mostro que las concentraciones plasmáticas siguieron un patrón compartimental bicompartimental en la alpaca. La tabla 10 muestra las constantes farmacocinéticas en promedio y su distribución standard siguiendo el análisis bicompartimental.

Tabla 9. Constantes farmacocinéticas del fentanilo en alpacas macho después de una inyección en bolo de 0.075 mg/kg.

Parámetro	Unidad	Promedios	SD
A	ng/ml	11.3845	1.5190
Alpha	1/min	0.1504	0.0271
B	ng/ml	0.5090	0.2292
Beta	1/min	0.0039	0.0030
k10	1/min	0.0534	0.0151
k12	1/min	0.0903	0.0113
k21	1/min	0.0105	0.0072
t1/2Alpha	Min	4.7171	0.6827
t1/2Beta	Min	266.2700	172.8382
C0	ng/ml	11.8935	1.5415
V	L	24.4000	0.0032
CL	l/min	1.3000	0.0004
V2	L	268.5000	0.1354
CL2	l/min	2.2000	0.0003
AUC 0-t	ng/ml*min	153.0243	9.7108
AUC 0-inf	ng/ml*min	235.7606	61.0136
AUMC	ng/ml*min ²	72901.4751	72617.2991
MRT	Min	266.8555	195.4676
Vss	L	292.0000	0.1359

4.3. Experimento 3: Evaluación del fentanilo a infusión a ritmo constante (IRCO)

4.3.1 Evaluación de la sedación:

Después de la inyección endovenosa de fentanilo a dosis de 0.0075mg/kg y el inicio de la infusión a ritmo constante en los tres grupos de tratamiento Grupo 1: 0.003mg/kg/hr, Grupo 2: 0.006mg/kg/hr. y Grupo 3: 0.009mg/kg/hr, todos los animales mostraron un grado 3 de sedación manifestado por colocarse en decúbito. En el Grupo1 se observó que algunos animales se pusieron de pie y comenzaron a moverse durante el desarrollo del experimento por lo que en ellos se decidió detener la infusión de fentanilo. Es así, que el número de animales del Grupo 1 fue disminuyendo paulatinamente, en el minuto 12.5, 1 animal fue retirado, en el minuto 15, 2 animales fueron retirados; en el minuto 17.5, 8 animales fueron retirados. Para la observación tomada en el minuto 20 todos los animales se consideraron fuera del estado de depresión siendo imposible mantener el goteo continuo. En el Grupo 2 y el Grupo 3 la totalidad de animales permanecieron en decúbito hasta terminadas las observaciones en el minuto 30. Así el promedio de tiempo en decúbito en el Grupo 1 (18.66 minutos) fue menor que en el Grupo 2 (36.84 minutos) y el Grupo 3 (34.88).

4.3.2 Evaluación de la Frecuencia cardiaca

La frecuencia cardiaca basal se evaluó en los animales de los tres grupos de tratamiento de infusión a ritmo constante de Fentanilo Grupo 1: 0,003 mg/kg/hora, Grupo 2: 0,006 mg/kg/hora y Grupo 3: 0,009 mg/kg/hora, en cada una de las observaciones realizadas (Pre tratamiento, apenas iniciada la IRCO de fentanilo y a los 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 25, 30minutos). Se puede observar que en la evaluación pretratamiento, las frecuencias cardiacas fueron similares en los tres diferentes grupos (Grupo 1: 104 ± 4.34 ; Grupo 2: 89.2 ± 4.81 y Grupo3: 98 ± 7.93). Después del inicio de los tratamientos se observó una ligera tendencia a la disminución no significativa de los valores de frecuencia cardiaca basal en todas las observaciones (Tabla 11).

Tabla 10. Promedio de la frecuencia cardiaca en alpacas tratadas con una inyección inicial de 0.0075 mg/KPV de fentanilo por vía endovenosa en dosis única y luego una infusión continua de 0.003 mg/kgPV/ hora (Grupo 1), 0.006 mg/kgPV/hora (Grupo 2) y 0.009 mg/kgPV/hora (Grupo 3). El cuadro muestra el promedio de la frecuencia cardiaca de cada grupo de tratamiento antes y después del tratamiento +/- SE. El tiempo 0 indica el momento de la inyección.

TIEMPO (MINUTOS)	GRUPO 1 (0.003 MG/KG/H)	GRUPO 2 (0.006 MG/KG/H)	GRUPO 3 (0.009 MG/KG/H)
PRE TRATAMIENTO	104±4.34	89.2±4.81	98±7.93
0	96.8±6.01	84.4±5.04	85.5±4.27
2.5	98±6.40	84.8±4.84	85±4.46
5	97.6±5.63	84.8±4.45	85±4.46
7.5	97.2±5.43	86.4±5.85	86.38±5.19
10	96.4±5	85.92±4.92	88.88±6.19
12.5	98.22±5.17 (n=9)	89.6±5.41	91.88±7.38
15	99.5±4.98 (n=8)	86.8±4.92	91±6.45
17.5	102±10 (n=2)	88±5.06	91.5±6.65
20		90.66±6.11	90±6.46
25		88±4.81	90.5±6.80
30		87.56±4.29	90±7.05

4.3.3 Evaluación de la respuesta al dolor

Se calcularon los valores promedio de la variación de la frecuencia cardiaca en los 3 grupos de tratamiento. Apenas iniciada la infusión continua (T0) los valores de las elevaciones de la frecuencia cardiaca fueron mínimos y similares entre los tres grupos de tratamiento (Grupo 1: 0;

Grupo 2: 1.6 ± 1.22 y Grupo 3: 0.5 ± 0.5) y se mantuvieron similares hasta el minuto 12.5 donde los valores de elevación de frecuencia cardiaca en el grupo 3 resultan significativamente menores a los del grupo 1 y grupo 2. En las observaciones subsiguientes y hasta el final del experimento la elevación de la frecuencia cardiaca en el grupo 3 permanece significativamente menor a la encontrada en el grupo 2 mientras que en el grupo 1 el experimento termina en el minuto 20 por observarse notoriamente las respuestas de dolor de los animales.

Tabla 11. Promedio de la variación de la Frecuencia cardiaca (V.F.C.) en los animales en respuesta a un estímulo doloroso. La variación fue calculada como frecuencia cardiaca durante el estímulo – frecuencia cardiaca basal en los tres grupos de tratamiento.

TIEMPO (MINUTOS)	GRUPO 1 (0.003 MG/KG/H)	GRUPO 2 (0.006 MG/KG/H)	GRUPO 3 (0.009 MG/KG/H)
PRE TRATAMIENTO	9.2 ± 1.89 (*a)	8.4 ± 1.63 (*a)	6 ± 1.69 (*a)
0	0(*b)	1.6 ± 1.22 (*b)	0.5 ± 0.5 (*b)
2.5	2.8 ± 1.04 (*b)	-0.2 ± 1.75 (*b)	-1 ± 0.65 (*b)
5	4 ± 2.15 (*b)	2 ± 1.07 (*b)	-1 ± 1 (*b)
7.5	4.4 ± 1.63 (*b)	2.4 ± 1.07 (*b)	4.63 ± 2.32 (*b)
10	9 ± 2.37 (*a)	5.2 ± 1.98 (*b)	6.63 ± 1.49 (*b)
12.5	8.44 ± 1.69 (*a) (n=9)	7.6 ± 1.73 (*a)	0.13 ± 2.07 (*b)
15	10.5 ± 2.92 (*a) (n=8)	9.2 ± 4.92 (*a)	0.5 ± 0.90 (*b)
17.5	14 ± 2 (n=2)	12.8 ± 1.55 (*a)	0.5 ± 0.5 (*b)
20	n=0	9.33 ± 0.94 (*a)	1 ± 0.65 (*b)
25	n=0	9.78 ± 1.18 (*a)	1 ± 1 (*b)
30	n=0	8 ± 0.94 (*a)	0 ± 0 (*b)

*letras diferentes en cada observación de tiempo demuestran diferencias estadísticas ($p > 0.005$)

La evaluación de las graficas de la frecuencia cardiaca y su elevación en los tres diferentes grupos de tratamiento permite evidenciar que en el Grupo 1 y Grupo 2 la respuesta de elevación de la frecuencia cardiaca por el estímulo doloroso se ve disminuida en las observaciones iniciales después del inicio de la infusión, sin embargo a partir del minuto 7.5 se observan elevaciones de la frecuencia cardiaca como respuesta al estímulo doloroso. Mientras que en el Grupo 3 la frecuencia cardiaca se mantiene casi sin elevaciones de la frecuencia cardiaca durante todas las observaciones hasta el minuto 30.

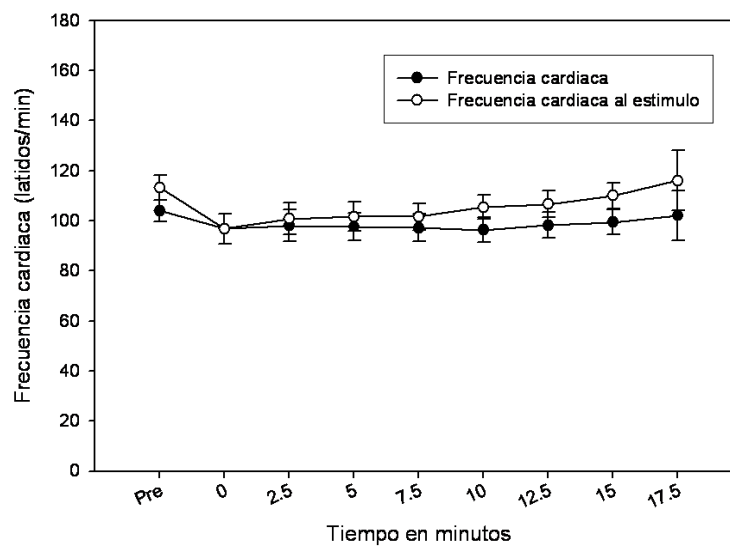


Figura 8. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0075 mg/KgPV de fentanilo en bolo y con una IRCO de 0.003 mg/KgPV/hora (Grupo 1). Se muestra la fluctuación en el promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (círculos negros) y de la frecuencia cardiaca en respuesta al estímulo doloroso (círculos vacíos) hasta 17.5 minutos después del inicio del tratamiento

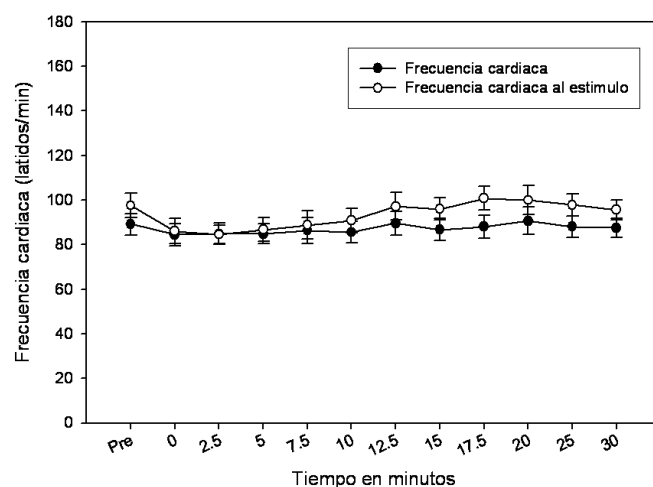


Figura 9. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0075 mg/KgPV de fentanilo en bolo y con una IRCO de 0.006 mg/KgPV/hora (Grupo 2). Se muestra la fluctuación en el promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (círculos negros) y de la frecuencia cardiaca en respuesta al estímulo doloroso (círculos vacíos) hasta 30 minutos después del inicio del tratamiento.

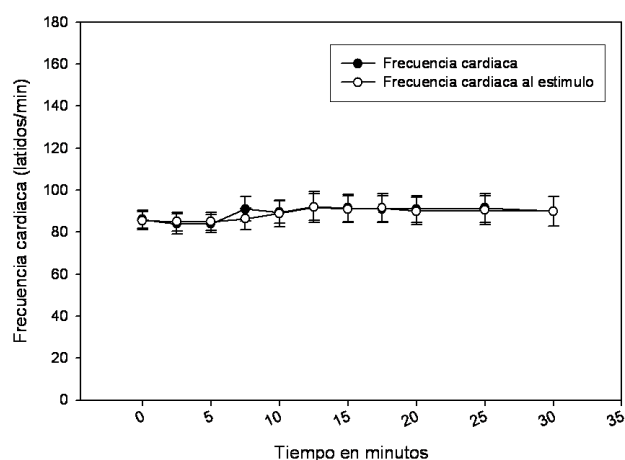


Figura 10. Promedio de la frecuencia cardiaca en animales tratados con 0.0075 mg/KgPV de fentanilo en bolo y con una IRCO de 0.009 mg/KgPV/hora (Grupo 3). Se muestra la fluctuación en el promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (círculos negros) y de la frecuencia cardiaca en respuesta al estímulo doloroso (círculos vacíos) hasta 30 minutos después del inicio del tratamiento.

4.3.4 Evaluación de la concentración plasmática del fentanilo en infusión a ritmo constante (IRCO).

La concentración plasmática de fentanilo se evaluó en 5 de los pacientes que recibieron la dosis inicial de bolo de 0.0075mg/kgPV y la infusión a ritmo constante de 0.009 mg /kg/hr mediante cromatografía líquida de alta performance según lo descrito anteriormente. Luego de la inyección del bolo de inducción y una vez iniciada la infusión a ritmo constante (IRCO) se evaluaron las concentraciones plasmáticas en el tiempo 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos. Los resultados de los promedios de las concentraciones plasmáticas de fentanilo en ng/ml, en los diferentes tiempos de evaluación se muestran en la tabla 9.

Tabla 12: valores de la concentración plasmática de fentanilo en alpacas después de la inyección de un bolo de 0.0075mg/kg y la inmediata infusión a ritmo constante de fentanilo a dosis de 0.009mg/kg/hora.

Tiempo	Concentración Plasmática	SE
2.5	9.23	0.2
5	6.88	0.13
7.5	4.36	0.18
10	2.86	0.14
12.5	2.77	0.13
15	2.96	0.1
17.5	3.12	0.07
20	3.46	0.13
30	4	0.09
45	2.85	0.11
60	1.86	0.11
90	1.2	0.08
120	0.86	0.02
180	0.73	0.02
240	0.63	0.02

La figura 11 muestra la gráfica de los logaritmos de la concentración plasmática de fentanilo a través del tiempo. En esta grafica se puede observar que durante los primeros 12.5 minutos de la infusión observo una caída bastante pronunciada en la concentración plasmática de fentanilo (2.86 ± 0.14 ng/ml). Seguidamente, se puede observar como la concentración comienza a elevarse nuevamente en respuesta a la infusión para formar un segundo pico de concentración al minuto 30 (4 ± 0.09 ng/ml) para luego disminuir paulatina y lentamente.

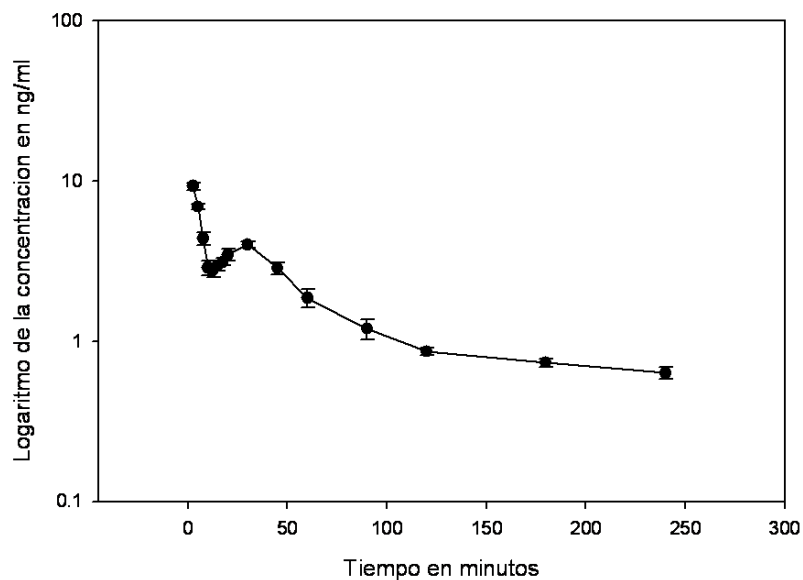


Figura 11. Gráfica logarítmica de los promedios (\pm SD) de las concentraciones plasmáticas de fentanilo después de la administración a ritmo constante (0.009 mg/kg de peso vivo/hora) en 10 alpacas. Tiempo 0 = tiempo de la administración de fentanilo.

CAPITULO V: Discusión

En medicina humana se acepta que el dolor es una experiencia totalmente subjetiva y muy variable de individuo a individuo, lo que hace que sea difícil de ser evaluado. Esta dificultad conlleva a que los protocolos analgésicos deben ser evaluados y adecuados a cada paciente en particular (1, 23, 86, 87). La evaluación de la experiencia dolorosa en animales resulta aún más difícil debido a la incapacidad de comunicación verbal de las interpretaciones consientes, realizadas por cada individuo animal, sobre los procesos nociceptivos que afrontan (38, 79).

Esto hace que algunos investigadores piensen que no se puede hablar de dolor en animales, al menos no de la misma forma que hace en los seres humanos(79); sin embargo los médicos veterinarios que afrontan la necesidad de realizar protocolos anestésicos y analgésicos en animales, evalúan el dolor con base a los cambios homeostáticos fisiopatológicos producidos por las respuestas corporales, principalmente vegetativas simpáticas al estímulo doloroso producido (27).

De manera similar a lo encontrado en neonatos humanos que no pueden expresar su opinión verbal y donde su capacidad de comprensión de los eventos lesivos es por lo menos muy limitada (88, 89) un factor de especial atención en los pacientes animales anestesiados es la monitorización de la frecuencia cardíaca, ya que se acepta que antes de notar respuestas consientes de dolor como movimientos musculares o vocalización en los pacientes anestesiados y sometidos a maniobras dolorosas, se observara el aumento de la frecuencia cardíaca como resultado de la respuesta vegetativa simpática del paciente (72, 84, 90).

La evaluación de los estados dolorosos es aún más difícil en especies como los camélidos sudamericanos que suelen vivir en medios agrestes y parecen ser más resistentes a estímulos dolorosos que otros animales domésticos (84). En nuestro primer experimento se realizó la evaluación de tres estímulos dolorosos, compresión de las falanges, compresión de membranas interdigitales (84) y la compresión en la base de la oreja, que según algunas de nuestras observaciones no publicadas parecía un estímulo doloroso más potente en esta especie.

Los resultados muestran que la compresión de las falanges y la compresión de las membranas interdigitales no realiza grandes variaciones de la frecuencia cardíaca en comparación a los valores de frecuencia cardíaca basal, esto podría deberse a las características anatómicas de esta especie que presentan las estructuras digitales protegidas por grandes y fuertes cubiertas corneas (3) y también al hecho de que en sus condiciones naturales de crianza altoandina, estos animales se encuentran muy acostumbrados a resistir traumas en las patas. Sin embargo, cuando se produjo la compresión de la base de la oreja se observa una marcada elevación de la frecuencia cardíaca como resultado de las respuestas vegetativas simpáticas producidas por el estímulo nociceptivo.

Cuando se evaluó la variación de frecuencia cardíaca como resultado del estímulo doloroso producido por la compresión en la base de la oreja en comparación a la variación observada con la compresión de falanges o en las membranas interdigitales, se encontraron diferencias estadísticas significativas. Por este motivo de manera similar a los reportado por Arndt, J. et al.

en perros (7), se decidió el uso de la compresión en la base de la oreja como el estímulo nociceptivo para ser utilizado en las siguientes etapas de nuestro trabajo.

Luego de la inyección endovenosa del bolo de fentanilo no se observó en ninguno de los animales de los tres grupos de tratamiento algún grado de excitación producto de la droga. En su lugar la tendencia observada en los tres grupos de experimentación fue a la aparente sedación de los animales manifestado por el ponerse en decúbito esternal, grado de depresión que se clasifica como Grado 3 en la tabla usada por Lovasz et al. (11). El hecho de que en ningún animal se observó evidencias de Grados de depresión 1 o 2 podría deberse a que, al ser nuestros animales de crianza extensiva, las maniobras los estimulaban mucho más que a los animales utilizados en los estudios reportados en la literatura, por lo que solo se demostraba la sedación cuando el efecto del fármaco era evidente. Estos resultados muestran que el comportamiento ante la inyección endovenosa de fentanilo en alpacas se tiene efectos sedantes, de manera similar a lo reportado en perros (7, 9, 49, 70) y gatos (37) y difieren de lo observado en cabras (63), o caballos (68, 69) donde el riesgo de accidentes en los animales y operarios por la excitación de los animales hace que el fentanilo se utilice con mucho cuidado. Los resultados muestran que existieron diferencias significativas en la depresión mostrada en los animales del Grupo 3 (dosis 0.0075mg/kg) en donde 9 animales se colocaron en decúbito esternal después de la inyección del fentanilo, en comparación a lo observado en el Grupo 1, (dosis 0.0025mg/kg) donde solo 2 animales se colocaron en decúbito y en el Grupo 2 (dosis 0.005mg/kg) donde 4 animales se colocaron en decúbito. Estos resultados sugieren que el fentanilo podría ser usado en esta especie de manera segura para animales y operarios, como parte de protocolos de sedación e inducción anestésica y se requiere mayor estudio para evaluar la interacción de este con otros

fármacos usados para anestesia, así mismo nuestros resultados concuerdan con el reporte de Espezua O, et al. quien menciona la utilización de Fentanilo en asociación con un tranquilizante y haber encontrado una aparente potenciación de los efectos de sedación en la etapa de premedicación anestésica en una alpaca (10). Sin embargo estos resultados contrastan con el reporte de Lovasz et al. quien utilizó una dosis de 2ug/kg y no encontró ningún efecto de sedación después de la inyección endovenosa en 6 alpacas (11). La diferencia con nuestros resultados parece ser por la insuficiente dosis utilizada por Lovasz en su protocolo, ya que en nuestras observaciones el número de animales que mostro un estado evidente de sedación aumento conforme aumentaba la dosis administrada en los diferentes Grupos de manera directamente proporcional. Este comportamiento es muy similar al reportado por Arndt J. en perros, donde al ir incrementando la dosis de fentanilo el efecto sedante, que al inicio estaba ausente, aparece y se hace más fuerte (7).

La evaluación de los valores de frecuencia cardiaca en relación al tiempo muestra que en el Grupo1 (0.0025 mg/kg) la frecuencia cardiaca después de administrado el fármaco se mantuvo similar a los valores preinyección, pero con una ligera tendencia a la elevación. En el Grupo 2 la frecuencia se mantuvo igual en las observaciones hasta el minuto 5 donde empezó su elevación alcanzando valores muy similares al Grupo1 en la observación al minuto 10. Mientras que en el Grupo 3 se observó una tendencia a la disminución de la frecuencia cardiaca hasta el minuto 5 y luego una lenta tendencia a la elevación, pero sin llegar a los valores pretratamiento en ninguna de las observaciones. Estos resultados son similares a los reportados por Arndt J. et al. (7) en perros como efecto de la inyección endovenosa de fentanilo. Además, de manera similar a lo reportado en perros, aunque se observó la tendencia a la disminución de la frecuencia cardiaca

hasta la observación en el minuto 5, la intensidad del pulso no se vio disminuida en ninguno de los animales. Además, al igual que lo observado en perros no se observó una disminución de la frecuencia respiratoria en ninguno de los animales en los diferentes grupos. Estos resultados son muy prometedores para el uso del fentanilo en alpacas dado que una de las constantes preocupaciones cuando se usan opioides en animales es la depresión cardio-respiratoria que se observa en otras especies y que parecen ser bien toleradas en alpacas.

El análisis de la elevación de la frecuencia cardíaca como resultado del estímulo doloroso en la base de la oreja mostro que los tres grupos de tratamiento tuvieron una elevación de la frecuencia cardíaca similar en la evaluación antes de la inyección del bolo de Fentanilo. Después de la inyección del fármaco, en los Grupos 1 y 2 se observó una ligera disminución no significativa de la respuesta al estímulo en el tiempo 0 que se recuperó rápidamente en las siguientes evaluaciones. Sin embargo, después la inyección del fentanilo en bolo en el Grupo 3 se observó la disminución significativa de la respuesta de elevación de la frecuencia cardíaca como resultado del estímulo doloroso hasta el minuto 5 post inyección, mostrando una tendencia a la elevación de la respuesta en las siguientes observaciones. Este resultado demuestra el efecto analgésico del Fentanilo en alpacas manifestado por el bloqueo de la respuesta corporal vegetativa de elevación de frecuencia cardíaca ante el estímulo doloroso luego de la inyección endovenosa de 0.0075mg/kg. Los resultados del efecto analgésico del fentanilo dependiente de dosis han sido reportados en humanos y en otras especies animales como perros (7, 9) y gatos (37, 91). Además, los resultados contribuyen a esclarecer lo encontrado por Lovasz et al. (11) quien menciona que el fentanilo no tiene efectos analgésicos en la alpaca como resultado de su trabajo, donde utilizo fentanilo a dosis de 0.002 mg/kg. En nuestra opinión este resultado se debe

a la insuficiente dosis utilizada en alpacas y demuestra que el efecto de los fármacos puede presentar una gran variabilidad entre especies animales, por lo que debe ser evaluada directamente en los animales de estudio y no se deberían realizar directas extrapolaciones de las dosis utilizadas en especies diferentes.

La evaluación de las curvas del logaritmo en base 10 de la concentración plasmática de fentanilo en los animales del Grupo 3 mostraron un comportamiento compartimental con cambios notorios en la pendiente de la curva a través del tiempo. En las gráficas se observó una primera fase de rápida disminución de la concentración plasmática o fase de distribución desde el compartimento central hacia el periférico y luego un cambio en la pendiente de la gráfica que demuestra una segunda fase de eliminación. Estas graficas demuestran un comportamiento bicompartimental en nuestras observaciones en alpacas. De manera similar se han reportado resultados de la farmacocinética compartimental del fentanilo en diferentes especies animales, aunque el número de compartimentos puede deberse a la metodología de muestreo utilizada.

El comportamiento bicompartimental encontrado en nuestros resultados en alpacas son similares al comportamiento bicompartimental encontrado en perros por Sano et al.(9). Además aunque no lo menciona en su trabajo y sus resultados fueron publicados con un análisis no compartimental, la curva del logaritmo de la concentración plasmática de fentanilo versus el tiempo en minutos después de la inyección endovenosa de 0.002 mg/kg de fentanilo en el experimento realizado por Lovasz et al. (11) también muestra un comportamiento compartimental. La evaluación de la forma de la curva antes de seleccionar el método de

evaluación de las constantes farmacocinéticas resulta importante para lograr valores adecuados que permitan entender y predecir el comportamiento del fármaco en los pacientes.

Las variables farmacocinéticas después de la inyección endovenosa presentaron un corto tiempo de vida media de distribución ($t_{1/2}^a$ promedio: 4.72 minutos), un tiempo de vida media de eliminación relativamente largo ($t_{1/2}^b$ promedio: 266.27 minutos), un volumen aparente de distribución del compartimiento central de 24.4L y un volumen de distribución de la fase de eliminación de 268.5 L. Los valores de volumen aparente de distribución observados se corresponden a las características de liposolubilidad del fentanilo y se corresponden con valores similares observados en perros por Sano et al. (9) y en caballos por Maxell et al. (69). Estos valores se producen por el rápido pasaje de la droga fuera del compartimento plasmático hacia los otros compartimentos corporales (extracelular e intracelular, tejido adiposo) donde permanece con mayor afinidad dando la imagen de la dilución del fármaco en un componente acuoso corporal elevado. Esto ocurre hasta que la concentración plasmática disminuye lo suficiente como para forzar el retorno del fármaco hacia el compartimiento plasmático logrando una disminución notoria en la pendiente de disminución de la curva.

El objetivo de encontrar una dosis para mantener una infusión a ritmo constante de Fentanilo en alpacas es el lograr mantener los efectos farmacológicos deseables de la droga por un tiempo mayor al que se logró con la inyección endovenosa en bolo, aportando micro dosis de manera controlada y continua, utilizando un volumen final menor que la aplicación de bolos adicionales (31, 92, 93). En los tres grupos experimentales los animales mostraron un estado de sedación manifestado por el colocarse en decúbito, lo cual resulta muy útil como parte del protocolo de

premedicación para facilitar el manejo de los animales. En el Grupo1 (0.003mg/kg/hr) los animales se mantuvieron en el estado de sedación por 16 en promedio, lo que dificultó el mantenimiento de la infusión continua obligándonos a la finalización del experimento de manera precoz. Mientras que en el Grupo2 y Grupo3 los efectos de sedación se mantuvieron hasta el minuto 30 permitiendo terminar el experimento en los dos grupos. Además, el tiempo promedio de mantenimiento de estado de sedación fue similar en los dos grupos y fue bastante rápido mostrando la rápida recuperación de los animales después del protocolo de infusión continua de 30 minutos.

Cuando se analiza el comportamiento de la elevación de la frecuencia cardíaca como respuesta al estímulo doloroso se puede observar que en el grupo 1 el efecto analgésico se logra, pero se pierde rápidamente. En el grupo 2 este efecto se mantiene por más tiempo, hasta aproximadamente el minuto 10 aunque como ya se dijo los animales de este grupo mostraron un grado 3 de sedación hasta el minuto 30. Mientras que en el Grupo 3 el efecto analgésico de la droga manifestado por la supresión de la elevación de la frecuencia cardíaca se mantuvo hasta la última observación realizada en el minuto 30. Estos resultados demuestran que el fentanilo puede ser usado en alpacas de manera segura en protocolos de infusión a ritmo constante, de manera similar a los reportado en perros (7, 9, 39, 51), gatos (37, 91), y humanos (13, 18, 19, 66, 76, 77, 80, 89, 94-96).

CAPITULO VI: Conclusiones

1. La dosis efectiva analgésica del fentanilo a dosis única inicial (dosis en bolo) para las alpacas ha sido de 0.0075 ug/kg.
2. La dosis de fentanilo en infusión a ritmo constante (IRCO) de 0.009 ug/kg/hr permitió prolongar los efectos analgésicos por 30 minutos en alpacas.
3. Los parámetros farmacocinéticos de fentanilo cuantificados en alpacas de altura fueron el tiempo de vida media alfa de 4.72 minutos y tiempo de vida media beta de 266.27, la constante de eliminación de 0.0053/min y el área bajo la curva (0-inf) de 235.76 ng/ml min.

CAPITULO VII: Referencias Bibliográficas

1. Bonica J. Anatomic and physiologic basis of nociception and pain in the management of pain. Lea-Fabiger, editor. Filadelfia 1990. 28-94 p.
2. Abrahamsen EJ. Chemical restraint, anesthesia, and analgesia for camelids. The Veterinary clinics of North America Food animal practice. 2009;25(2):455-94.
3. Fowler M. Medicine and surgery of south american camelids - Llama, alpaca, vicuna, guanaco. 2 ed. Press ISU, editor. Iowa 1998. 87-107 p.
4. Hengrave Burri I, Martig J, Sager H, Liesegang A, Meylan M. [South American camelids in Switzerland. I. Population, management and health problems]. Schweizer Archiv fur Tierheilkunde. 2005;147(8):325-34.
5. Shoemaker RW, Wilson DG. Surgical repair of femoral fractures in New World camelids: five cases (1996-2003). Aust Vet J. 2007;85(4):148-52.
6. Tee SY, Dowling BA, Dart AJ. Treatment of long bone fractures in South American camelids: 5 cases. Aust Vet J. 2005;83(7):418-20.
7. Arndt JO, Mikat M, Parasher C. Fentanyl's analgesic, respiratory, and cardiovascular actions in relation to dose and plasma concentration in unanesthetized dogs. Anesthesiology. 1984;61(4):355-61.
8. Pascoe PJ. Opioid analgesics. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2000;30(4):757-72.
9. Sano T, Nishimura R, Kanazawa H, Igarashi E, Nagata Y, Mochizuki M, et al. Pharmacokinetics of fentanyl after single intravenous injection and constant rate infusion in dogs. Vet Anaesth Analg. 2006;33(4):266-73.
10. OSCAR ESPEZUA FLORES YCG, JUAN OLAZABAL LOAIZA. Anestesia total intra venosa de la combinación xilacina, ketamina y fentanilo para canulación del primer compartimento en alpacas. Revista Investigaciones Altoandinas. 2015;17:41-6.
11. Lovasz M, Aarnes TK, Hubbell JAE, Bednarski RM, Lerche P, Lakritz J. Pharmacokinetics of intravenous and transdermal fentanyl in alpacas. J Vet Pharmacol Ther. 2017;40(6):663-9.
12. Guyton A. Receptores sensoriales; circuitos neuronales para el procesamiento de la información. In: McGraw-Hill I-, editor. Tratado de Fisiología médica. 1. 8va ed. Madrid 1989. p. 517-28.

13. Shafford HLL, B.D.; Hellyer, W.H. Preemptive analgesia: managing pain before it begins. *Veterinary medicine*. 2001.
14. Lynne U. Sneddon RWE, Shelley A. Adamo, Matthew C. Leach. Defining and assessing animal pain. *Animal Behaviour*. 2014;97:201 - 12.
15. Krista M.McLennan ALM, EmanuelaDalla Costa, DianaStucke, Murray J.Corke, Donald M.Broom, Matthew C.Leach. Conceptual and methodological issues relating to pain assessment in mammals: The development and utilisation of pain facial expression scales. *Applied Animal Behaviour Science*. 2019;217:1-15.
16. Grubb T, Sager J, Gaynor JS, Montgomery E, Parker JA, Shafford H, et al. 2020 AAHA Anesthesia and Monitoring Guidelines for Dogs and Cats. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2020;56(2):59-82.
17. Miranda A. Bases anatomicas del dolor. In: editor MA, editor. *Dolor Postoperatorio Estudio, valoracion y tratamiento*. 1. Barcelona1992. p. 57-85.
18. Cervero F, Laird JM. Visceral pain. *Lancet*. 1999;353(9170):2145-8.
19. Cervero F. Visceral pain-central sensitisation. *Gut*. 2000;47 Suppl 4:iv56-7; discussion iv8.
20. Lynn B. The detection of injury and tissue damage. In: Patrick D Wall RM, editor. *Textbook of pain*. 1. Edimburg: Churchill Livingstone; 1984. p. 19-33.
21. Cervero F, Janig W. Visceral nociceptors: a new world order? *Trends Neurosci*. 1992;15(10):374-8.
22. Cervero F. Modulacion medular y supramedular de la informacion nociceptiva: base neurofisiologica del alivio del dolor por los opiaceos intrateccales. *Dolor*. 1986;1:65-70.
23. Albe-Fessard D, Berkley KJ, Kruger L, Ralston HJ, 3rd, Willis WD, Jr. Diencephalic mechanisms of pain sensation. *Brain Res*. 1985;356(3):217-96.
24. Kenshalo DRJRW, W.D.J.R. The role of the cerebral cortex in pain sensation. In: Jones EG. PAe, editor. *The cerebral cortex*. 9. Nueva York: Plenum Press; 1991. p. 153-212.
25. Scott NB, Kehlet H. Regional anaesthesia and surgical morbidity. *Br J Surg*. 1988;75(4):299-304.
26. Cruz J. Recuerdo historico de la anestesiologia veterinaria. *Consulta Difus Vet*. 2001;9(78):79-86.

27. Benson JCTWJTJGJ. Fundamentos de Anestesia y Analgesia en pequenos animales. Primera ed. Espana: Masson S.A.; 2003. 455 p.
28. Greenwald MK, June HL, Stitzer ML, Marco AP. Comparative clinical pharmacology of short-acting mu opioids in drug abusers. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996;277(3):1228-36.
29. Covey-Crump GL, Murison PJ. Fentanyl or midazolam for co-induction of anaesthesia with propofol in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2008.
30. Stanley TH. The fentanyl story. *J Pain*. 2014;15(12):1215-26.
31. Jaslow D, Klimke A, Cunnius P, Neubert D. Prehospital pharmacology: fentanyl. *Emerg Med Serv*. 2007;36(8):105-9.
32. Jagerovic N, Cano C, Elguero J, Goya P, Callado LF, Meana JJ, et al. Long-acting fentanyl analogues: synthesis and pharmacology of N-(1-phenylpyrazolyl)-N-(1-phenylalkyl-4-piperidyl)propanamides. *Bioorg Med Chem*. 2002;10(3):817-27.
33. Wilhelm W, Kreuer S. The place for short-acting opioids: special emphasis on remifentanyl. *Crit Care*. 2008;12 Suppl 3:S5.
34. Manchikanti L, Manchukonda R, Pampati V, Damron KS. Evaluation of abuse of prescription and illicit drugs in chronic pain patients receiving short-acting (hydrocodone) or long-acting (methadone) opioids. *Pain Physician*. 2005;8(3):257-61.
35. Davis PJ, Cladis FP. The use of ultra-short-acting opioids in paediatric anaesthesia: the role of remifentanyl. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44(8):787-96.
36. Effect of intravenous flumazenil on reversal of the central effects of midazolam used with short-acting opioids for general anesthesia in hospitalized patients: report of a multicenter, double-blind clinical study. The Flumazenil in General Anesthesia in Hospitalized Patients Study Group I. *Clin Ther*. 1992;14(6):924-38.
37. Ambros B, Alcorn J, Duke-Novakovski T, Livingston A, Dowling PM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a constant rate infusion of fentanyl (5 mug/kg/h) in awake cats. *Am J Vet Res*. 2014;75(8):716-21.
38. Dossin O. The veterinarian's responsibility: assesing and managing acute pain in dogs and cats1991.
39. Bailey PL, Port JD, McJames S, Reinersman L, Stanley TH. Is fentanyl an anesthetic in the dog? *Anesth Analg*. 1987;66(6):542-8.

40. Andersen HB, Christensen B, Findlay JW, Jansen JA. Pharmacokinetics of intravenous, intrathecal and epidural morphine and fentanyl in the goat. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1986;30(5):393-9.
41. McQuay HJ, Moore RA, Paterson GM, Adams AP. Plasma fentanyl concentrations and clinical observations during and after operation. *Br J Anaesth*. 1979;51(6):543-50.
42. Yassen A, Olofsen E, Kan J, Dahan A, Danhof M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the effectiveness and safety of buprenorphine and fentanyl in rats. *Pharm Res*. 2008;25(1):183-93.
43. Woloszczuk-Gebicka B, Wyska E, Grabowski T, Swierczewska A, Sawicka R. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of rocuronium under stable nitrous oxide-fentanyl or nitrous oxide-sevoflurane anesthesia in children. *Paediatr Anaesth*. 2006;16(7):761-8.
44. Yassen A, Kan J, Olofsen E, Suidgeest E, Dahan A, Danhof M. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the respiratory-depressant effect of buprenorphine and fentanyl in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;319(2):682-92.
45. Yassen A, Olofsen E, Dahan A, Danhof M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effect of buprenorphine and fentanyl in rats: role of receptor equilibration kinetics. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005;313(3):1136-49.
46. Ropcke H, Lier H, Hoeft A, Schwilden H. Isoflurane, nitrous oxide, and fentanyl pharmacodynamic interactions in surgical patients as measured by effects on median power frequency. *J Clin Anesth*. 1999;11(7):555-62.
47. Kazama T, Ikeda K, Morita K. The pharmacodynamic interaction between propofol and fentanyl with respect to the suppression of somatic or hemodynamic responses to skin incision, peritoneum incision, and abdominal wall retraction. *Anesthesiology*. 1998;89(4):894-906.
48. Rajan V, Beharry KD, Williams P, Modanlou HD. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetic profile of continuous infusion fentanyl in newborn piglets. *Biol Neonate*. 1998;74(1):39-47.
49. Luks AM, Zwass MS, Brown RC, Lau M, Chari G, Fisher DM. Opioid-induced analgesia in neonatal dogs: pharmacodynamic differences between morphine and fentanyl. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;284(1):136-41.

50. Arnold JH, Truog RD, Scavone JM, Fenton T. Changes in the pharmacodynamic response to fentanyl in neonates during continuous infusion. *J Pediatr.* 1991;119(4):639-43.
51. Monbaliu J, Degryse AD, Ooms LA, Van Dijk P, Lagerweij E, Michiels M, et al. Hypnoanalgesia with R 8110/fentanyl in the dog: pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions. *J Vet Pharmacol Ther.* 1988;11(1):63-70.
52. Scott JC, Stanski DR. Decreased fentanyl and alfentanil dose requirements with age. A simultaneous pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987;240(1):159-66.
53. Lehmann KA. [Plasma opioid concentrations and the pharmacodynamic effect. Studies on fentanyl]. *Fortschr Med.* 1985;103(40):938-42.
54. Schieber RA, Stiller RL, Cook DR. Cardiovascular and pharmacodynamic effects of high-dose fentanyl in newborn piglets. *Anesthesiology.* 1985;63(2):166-71.
55. Collins SJ, Robinson AL, Holland HF. A comparison between total intravenous anaesthesia using a propofol/alfentanil mixture and an inhalational technique for laparoscopic gynaecological sterilization. *Eur J Anaesthesiol.* 1996;13(1):33-7.
56. Reisine T PG. Analgesicos opioides y sus antagonistas. In: Goodman & Gilman HJ, Limbird LE et al eds, editor. *Las bases farmacologicas de la terapeutica.* Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 1996. p. 557-93.
57. Rodriguez A P-TJ, Figuerola P, et al. Analgesicos opioides y sus antagonistas. In: Castillo J C, E, Gomar C, Villalonga A., editor. *Farmacologia en anestesiologia.* 2nd ed. Madrid: FEEA; 2003. p. 143-62.
58. Barutell C RM, Martinez P. Fentanilo. *Dolor.* 2004;19(2):98-104.
59. Kamerling SG, DeQuick DJ, Weckman TJ, Tobin T. Dose-related effects of fentanyl on autonomic and behavioral responses in performance horses. *Gen Pharmacol.* 1985;16(3):253-8.
60. Mama KR, Pascoe PJ, Steffey EP. Evaluation of the interaction of mu and kappa opioid agonists on locomotor behavior in the horse. *Can J Vet Res.* 1993;57(2):106-9.
61. Sanchez LC, Robertson SA, Maxwell LK, Zientek K, Cole C. Effect of fentanyl on visceral and somatic nociception in conscious horses. *J Vet Intern Med.* 2007;21(5):1067-75.

62. Knych HK, Steffey EP, Casbeer HC, Mitchell MM. Disposition, behavioural and physiological effects of escalating doses of intravenously administered fentanyl to young foals. *Equine Vet J.* 2015;47(5):592-8.
63. Carroll GL, Hooper RN, Boothe DM, Hartsfield SM, Randoll LA. Pharmacokinetics of fentanyl after intravenous and transdermal administration in goats. *Am J Vet Res.* 1999;60(8):986-91.
64. Puig MM BE, Polo O. Mecanismo de accion de los opioides. In: Aliaga L CE, editor. *Opioides utilizacion clinica.* Madrid: You & Us; 2001. p. 1-10.
65. Raffe MR. Total Intravenous Anesthesia for the Small Animal Critical Patient. *Vet Clin Small Anim.* 2020;50:1433-44.
66. Kaiko RF. Use of transdermal fentanyl for cancer pain management. *Am Fam Physician.* 1993;47(4):729-30.
67. Portenoy RK, Southam MA, Gupta SK, Lapin J, Layman M, Inturrisi CE, et al. Transdermal fentanyl for cancer pain. Repeated dose pharmacokinetics. *Anesthesiology.* 1993;78(1):36-43.
68. Knych HK, Steffey EP, Mitchell MM, Casbeer HC. Effects of age on the pharmacokinetics and selected pharmacodynamics of intravenously administered fentanyl in foals. *Equine Vet J.* 2015;47(1):72-7.
69. Maxwell LK, Thomasy SM, Slovis N, Kollias-Baker C. Pharmacokinetics of fentanyl following intravenous and transdermal administration in horses. *Equine Vet J.* 2003;35(5):484-90.
70. Priano LL. Effects of high-dose fentanyl on renal haemodynamics in conscious dogs. *Canadian Anaesthetists' Society journal.* 1983;30(1):10-8.
71. F.L. Garcia Pereira * SAG, M.-M. McEwen RK. Analgesia and anesthesia in camelids. *Small Rumin Res.* 2006;61:227 - 33.
72. Riebold TW, Kaneps AJ, Schmotzer WB. Anesthesia in the llama. *Veterinary surgery :* VS. 1989;18(5):400-4.
73. HILARI JMQ. ANESTESIA INHALATORIA EN CRÍAS DE ALPACAS SOMETIDAS A CIRUGÍA ABDOMINAL. 2017:80.

74. Tinkler SH, Mathews LA, Firshman AM, Quandt JE. The use of equine surfactant and positive pressure ventilation to treat a premature alpaca cria with severe hypoventilation and hypercapnia. *Can Vet J*. 2015;56(4):370-4.
75. Larenza MP, Zanolari P, Jaggin-Schmucker N. Balanced anesthesia and ventilation strategies for an alpaca (*Lama pacos*) with an increased anesthetic-risk. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 2008;150(2):77-81.
76. Gelinas C, Fortier M, Viens C, Fillion L, Puntillo K. Pain assessment and management in critically ill intubated patients: a retrospective study. *Am J Crit Care*. 2004;13(2):126-35.
77. Gelinas C, Viens C, Fortier M, Fillion L. [Pain indicators in critical care]. *Perspect Infirm*. 2005;2(4):12-4, 6-20, 2.
78. Hugonnard M, Leblond A, Keroack S, Cadore JL, Troncy E. Attitudes and concerns of French veterinarians towards pain and analgesia in dogs and cats. *Vet Anaesth Analg*. 2004;31(3):154-63.
79. Taylor PM, Pascoe PJ, Mama KR. Diagnosing and treating pain in the horse. Where are we today? *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2002;18(1):1-19, v.
80. Beecher HK. The measurement of pain; prototype for the quantitative study of subjective responses. *Pharmacol Rev*. 1957;9(1):59-209.
81. Kadwell M, Fernandez M, Stanley HF, Baldi R, Wheeler JC, Rosadio R, et al. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proc Biol Sci*. 2001;268(1485):2575-84.
82. Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H. Opioid pharmacology. *Pain Physician*. 2008;11(2 Suppl):S133-53.
83. Barnett JL. Measuring pain in animals. *Aust Vet J*. 1997;75(12):878-9.
84. Uhrig SR, Papich MG, KuKanich B, Mama KR, Wagner AE, Chapman PL, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of morphine in llamas. *Am J Vet Res*. 2007;68(1):25-34.
85. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed*. 2010;99(3):306-14.

86. Appelhans BM, Luecken LJ. Heart rate variability and pain: associations of two interrelated homeostatic processes. *Biol Psychol.* 2008;77(2):174-82.
87. Donner B, Zenz M, Tryba M, Strumpf M. [Transdermal fentanyl for the treatment of cancer pain.]. *Schmerz.* 1993;7(1):18-24.
88. Johnston CC, Strada ME. Acute pain response in infants: a multidimensional description. *Pain.* 1986;24(3):373-82.
89. Owens ME, Todt EH. Pain in infancy: neonatal reaction to a heel lance. *Pain.* 1984;20(1):77-86.
90. Moltner A, Holzl R, Strian F. Heart rate changes as an autonomic component of the pain response. *Pain.* 1990;43(1):81-9.
91. Smith JD, Allen SW, Quandt JE, Tackett RL. Indicators of postoperative pain in cats and correlation with clinical criteria. *Am J Vet Res.* 1996;57(11):1674-8.
92. Dahan A, Kest B. Recent advances in opioid pharmacology. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2001;14(4):405-10.
93. Dray A, Urban L, Dickenson A. Pharmacology of chronic pain. *Trends Pharmacol Sci.* 1994;15(6):190-7.
94. Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol.* 1999;57(1):1-164.
95. Kamerling S, Wood T, DeQuick D, Weckman TJ, Tai C, Blake JW, et al. Narcotic analgesics, their detection and pain measurement in the horse: a review. *Equine Vet J.* 1989;21(1):4-12.
96. Roulin MJ, Ramelet AS. Pain indicators in brain-injured critical care adults: an integrative review. *Aust Crit Care.* 2012;25(2):110-8.

